

Série E
N° 125

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DE PHARMACIE
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(Doctorat d'État)

par

Guy LEDOUBLE

1^{re} THÈSE. — Alcaloïdes du *Picralima nitida* (Stapf)
Th. et Hél. Dur.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 23 Mars 1964 devant la Commission d'Examen.

MM. M.-M. JANOT,	<i>Président</i>
R. PARIS	} <i>Examineurs</i>
J. POISSON	

REIMS
IMPRIMERIE DU NORD-EST
15, RUE DES TELLERS

1964

Série E
N° 125

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DE PHARMACIE
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(Doctorat d'État)

par

Guy LEDOUBLE

1^{re} THÈSE. — Alcaloïdes du *Picralima nitida* (Stapf)
Th. et Hél. Dur.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 23 Mars 1964 devant la Commission d'Examen.

MM. M.-M. JANOT, <i>Président</i>	
R. PARIS	} <i>Examineurs</i>
J. POISSON	

REIMS
IMPRIMERIE DU NORD-EST
15, RUE DES TELLERS

1964



FACULTÉ DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

ADMINISTRATION

M. G. VALETTE	Doyen
M. M.-M. JANOT	Assesseur
M. P. MALANGEAU	Assesseur
M. L. RODINEAU	Secrétaire Général
M ^{me} S. FERRARI	Attachée Principale
M. L. JEANDEL	Attaché
Mlle G. BIDEAU	Secrétaire
M ^{me} S. CERTAIN	Secrétaire
M ^{me} M. COUSIN	Secrétaire
M. A. DROUILLY	Secrétaire
M ^{me} M.L. ESPINASSE	Secrétaire
Mlle A.M. FAVERJON	Secrétaire
M. G. FROISSART	Secrétaire

DOYEN HONORAIRE

M. R. FABRE	Membre de l'Institut. Président de l'Académie de Médecine.
-------------------	---

PROFESSEURS HONORAIRES

M. M. DELEPINE	Membre de l'Institut
M. L. LAUNOY	
M. P. FLEURY	
M. M. MASCRE	
M. M. PICON	
M. C. BEDEL	
M. R. FABRE	Membre de l'Institut. Président de l'Académie de Médecine.

PROFESSEURS

M. M.-M. JANOT	Pharmacie galénique (T)
M. G. VALETTE	Pharmacodynamie (T)
M. R. PARIS	Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale (T)
M. M. GUILLOT	Physique (T)
M. J.A. GAUTIER	Chimie organique (T)
Mlle S. LAMBIN	Microbiologie (T)
M. Y. RAOUL	Physiologie (T)

M. J. COURTOIS	Chimie Biologique (T)
M. L. DOMANGE	Chimie minérale (T)
M. P. CRETE	Botanique (T)
M. R. TRUHAUT	Toxicologie et Hygiène industrielle (T)
M. A. MORETTE	Hydrologie (T)
M. R. CAVIER	Parasitologie (T)
M. A. QUEVAUVILLER	Hygiène et Education sanitaire (T)
M. R. MOREAU	Pharmacie chimique (T)
M. J. GUY	Mathématiques appliquées aux sciences physi- ques et biologiques (T)
M. A. GERMAN	Virologie et sérologie (T)
M. M. PIETTE	Biologie sanguine (T)
M. P. MALANGEAU	Chimie analytique (T)
M. M. GIRARD	Chimie appliquée à l'expertise (T)
M. G. DILLEMAN	Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie (T)
M. G. DEYSSON	Cytologie végétale (T)
M. J. FLAHAUT	Minéralogie (T)
M. A. LE HIR	Pharmacie galénique
M. J. RENAULT	Chimie organique
M. C. BOUDENE	Toxicologie et hygiène industrielle (T)
M. P. LARUELLE	Physique
M. P. ROSSIGNOL	Pharmacodynamie
M. A. MANGEOT	Pharmacie galénique industrielle
M. P. DELAVEAU	Matière médicale

MAÎTRES DE CONFERENCES

M. R. BOURDON	Chimie analytique
M. Y. COHEN	Sciences naturelles
M. G. LE MOAN	Sciences appliquées
M. H. RENAULT	Pharmacie chimique
M. C. PAOLETTI	Sciences appliquées
M. P. REYNAUD	Sciences physico-chimiques
M. J. POISSON	Sciences naturelles
M. A. DESVIGNES	Cryptogamie et technique bactériologique
M. F. PERCHERON	Sciences appliquées
M. J. SAVEL	Biologie animale
M. J. BORY	Sciences naturelles

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

M. P. BINET	Parasitologie
M. A. CARLIER (FF)	Pharmacie galénique industrielle
M. A. CAVE	Pharmacotechnie
M. P. CORRIEZ	Physique
M. C. DREUX (FF)	Electrochimie appliquée à l'analyse
M. P. GESTEAU	Physique biologique
M. J.C. GOUNELLE	Analyse appliquée au contrôle des médicaments (section biologie)
M. H. GUERIN	Micrographie (3 ^{me} année). Essais des drogues végétales.
M. J. HARISPE	Chimie générale et pharmaceutique
M. J. HENRY	Chimie (4 ^{me} année)
M ^{me} J. HUBERT	Microbiologie

Mlle Y. JUND (FF)	Microbiologie
M ^{me} N. LEGER (FF)	Parasitologie
M R. LELUC	Microbiologie
M. A. LEMONNIER	Chimie analytique (2 ^e et 3 ^e années)
Mlle M. LOISEAU (FF)	Chimie (4 ^{me} année)
Mlle S. LONGUEVALLE	Service des examens de chimie
M. J. MANDEREAU (FF)	Pharmacotechnie
Mlle H. MORIN	Pharmacodynamie
M. NGUYEN PHU LICH (FF)	Toxicologie
M. F. PELLERIN	Chimie analytique (2 ^e et 3 ^e années)
M. R. PERLES	Chimie biologique
M P. POUILLAIN	Hématologie
M ^{me} M. ROBERT	Sérologie
Mlle A. ROLLEN	Biologie végétale
M ^{me} N. SALES (FF)	Biologie animale
Mlle L. SEGUIN (FF)	Analyse appliquée au contrôle des médicaments (section physico-chimie)
M ^{me} M. SEILLER (FF)	Pharmacie galénique industrielle
M. J. YONGER (FF)	Chimie analytique (1 ^{re} année)

BIBLIOTHEQUE

Mlle Y. RUYSSSEN	Conservateur, chargée de la direction
Mlle S. LAVAUD	Conservateur
M ^{me} G. KREHMER	Conservateur
M ^{me} A. DESGRIPPES	Bibliothécaire



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MAURICE-MARIE JANOT

*qui a bien voulu me faire l'honneur
de présider le jury de cette thèse.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR RENÉ PARIS

*qui m'a fait l'honneur d'accepter de
faire partie du jury de cette thèse.*

A MONSIEUR JACQUES POISSON, Maître de conférences

*qui a bien voulu accepter de juger ce
travail.*

En témoignage de respectueuse gratitude.

A MONSIEUR MAURICE-MARIE JANOT

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris,
Membre de l'Académie Nationale de Médecine

*qui me fit l'honneur de m'accepter dans
son équipe de chercheurs, et de me
confier ce travail,*

*Qu'il veuille bien trouver ici l'expres-
sion de ma très respectueuse reconnais-
sance.*

A MONSIEUR JEAN LE MEN

Professeur à l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie de Reims

*qui a bien voulu guider mes premiers
pas dans le domaine de la chimie végé-
tale, et n'a pas cessé de me faire béné-
ficier de sa haute compétence.*

*En témoignage de mon affection recon-
naissante*

A MONSIEUR MICHEL QUIRIN

Professeur à l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie de Reims

que je remercie pour l'aide et les nombreux encouragements qu'il m'a prodigués avec la plus aimable bienveillance.

En témoignage de mon respectueux attachement.

A MA FEMME, A MON FILS,

En témoignage de ma plus vive affection

A MES PARENTS,

A TOUTE MA FAMILLE,

*Avec l'expression de ma filiale tendresse
et de mon affectueux attachement.*

A MES AMIS.

INTRODUCTION

Au sein de l'équipe de chercheurs de la Faculté de Pharmacie de Paris, créée et conduite par M. le Professeur M.-M. JANOT, M. le Professeur J. LE MEN a porté principalement son intérêt sur les Apocynacées à alcaloïdes.

Alors que le jeune groupe de chercheurs de l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie de Reims, né de son initiative et de celle de M. le Professeur M. QUIRIN, commençait ses activités dans le domaine de la chimie végétale, M. le Professeur J. LE MEN a bien voulu me confier comme sujet de thèse, l'étude d'une Apocynacée Africaine, le *Picralima nitida*.

Bien qu'ayant déjà fait l'objet de recherches importantes, cette plante est tantôt désignée sous les termes de *Picralima nitida* ou de *Picralima klaineana*, dans les publications chimiques récentes. Il était donc intéressant d'examiner d'abord le problème de la synonymie posé par cette espèce, et de situer sa place dans le cadre plus général de la famille des Apocynacées. Cette mise au point botanique a constitué le premier objectif de notre travail.

Voici plus de trente ans, le chimiste britannique T.-A. HENRY a isolé des graines de cet arbre africain, huit alcaloïdes définis. Aux méthodes complexes de cristallisation suivies par cet auteur pour séparer ces huit alcaloïdes, nous nous sommes proposés de substituer les techniques modernes de fractionnement par chromatographie sur colonne, et sur plaque en couche mince.

Cette étude de chimie extractive visait deux buts : l'amélioration des rendements d'extraction des alcaloïdes connus, et l'espoir d'isoler à cette occasion, à partir des graines, de nouveaux alcaloïdes.

Par ailleurs, les autres organes du *Picralima nitida* n'avaient fait jusqu'alors l'objet que de travaux très succincts. Leur étude phytochimique a surtout retenu notre attention.

Il était intéressant de savoir, en effet, si les alcaloïdes présents dans les graines existaient également dans les feuilles, tiges et racines, et s'il n'était pas possible d'y découvrir en outre des alcaloïdes voisins pouvant éclairer la biogénèse de ce groupe de substances naturelles.

Les résultats auxquels nous sommes parvenus seront exposés selon le plan suivant :

CHAPITRE I : ETUDE BOTANIQUE.

CHAPITRE II : ETUDE CHIMIQUE.

A - Etude des graines

B - Etude des racines

C - Etude des tiges

D - Etude des feuilles.

CHAPITRE III : NOMENCLATURE DES ALCALOÏDES ISOLES DU PICRALIMA NITIDA.

Avant d'aborder l'exposé de ce travail, qu'il nous soit permis de remercier :

— M. le Professeur R. FRANQUET, Directeur honoraire ;

— M. M. LEULIER, Professeur honoraire ;

— M. le Professeur L. VILDÉ, Directeur de l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie de Reims,

qui, par leur action efficace en faveur du développement de la recherche à l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie de Reims, ont grandement facilité notre entreprise.

— Nos camarades du Laboratoire de Pharmacie Galénique de la Faculté de Pharmacie de Paris :

Mme J. GARNIER-GOSSET, Mlle L. OLIVIER et M. J. LÉVY.

Nous adressons nos sincères remerciements

— à M. le pharmacien Colonel BOUQUET, et à M. le pharmacien Capitaine DEBRAY, qui nous ont fourni la matière première de ces recherches, ainsi que les photographies de certaines parties de la plante.

— à Mme HOUELLE et M. HESPEL, qui ont bien voulu effectuer les spectres infra-rouges dans le service de M. le Professeur J. GUY, à la Faculté de Pharmacie de Paris.

— à Mme ALAIS et Mme ORLEY qui ont exécuté les spectres de R.M.N. et de masse à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles du C.N.R.S. (Gif-sur-Yvette).

Nous exprimons notre gratitude

— à MM. les Professeurs de l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie de Reims : MM. M. AUROUSSEAU, R. DOURIS, J. DUCHENNE, J. GARDENT, M. LECLERC,

— à M. H. CHOISY et Madame,

— à tous nos camarades Assistants de l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie de Reims : Mmes et Mlles O. ALBERT, M.-C. APPERT-COLLIN, L. d'HALLUIN-CAPLET; MM. P. LATHUILLIÈRE et F. QUIRIN, qui, à des titres divers, nous ont aidé dans ces recherches.

Nous ne saurions non plus oublier le concours qui nous a été apporté pour l'étude bibliographique par Mme J. PITHOIS, Bibliothécaire à l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie de Reims, et par M. M. LECRIVAIN : qu'ils en soient remerciés.

Nous assurons enfin de notre amicale reconnaissance M. R. POURIL dont la collaboration nous a été très précieuse tout au long de la partie expérimentale de ce travail.

CHAPITRE I

ETUDE BOTANIQUE

Le *Picralima nitida* est une Apocynacée originaire des régions tropicales du continent africain.

Dès 1894, O. STAPF, qui a dirigé pour le Flora of Tropical Africa la révision des Apocynacées de cette contrée, décrit cette plante sous le terme de *Tabernaemontana nitida* (60).

En 1896, le botaniste français PIERRE (42) crée un genre nouveau : *Picralima klaineana*, dénomination à laquelle se rallie finalement STAPF en 1904 (61), qui reconnaît en effet l'existence de nombreux caractères différentiels entre cette plante et le genre *Tabernaemontana*.

Mais à la suite de l'adoption des règles internationales de la nomenclature botanique, lors des Congrès internationaux de botanique : Vienne (1905), Bruxelles (1910), l'épithète « *nitida* », créée par STAPF, est restituée à cette espèce. En effet, ces règles prescrivent de conserver, ou rétablir (si elle n'a pas été conservée), l'épithète spécifique originale, lors du transfert d'une espèce d'un genre dans un autre.

C'est pourquoi Th. et Hél. DURAND (14) désignent cette plante par le terme de *Picralima nitida* (STAPF) Th. et Hél. Dur., que nous adopterons dans le présent travail.

A -- Place du genre *Picralima* dans la famille des Apocynacées.

(tableaux n^{os} 1, 2, 3)

Pour cette famille, la classification généralement admise est celle de M. PICHON qui, jusqu'en 1948, la divise en trois sous-familles, d'après les caractères de l'androcée et de la graine :

- Les Plumérioidées,
- Les Tabernaemontanoïdées,
- Les Echitoïdées.

Famille

APOCYNACEES

Anthères à connectif ne portant pas de rétinacle

Anthères à connectif portant ventralement un rétinacle

Loges presque apposées dos à dos
Déhiscence sublatérale
Ecaillés infra- ou supra-staminales à l'intérieur du tube de la corolle

Loges collatérales ou presque
Déhiscence introrse ou subintrorse
Pas d'écaillés infra- ou supra-staminales

Loges presque collatérales
déhiscence introrse ou subintrorse
Pas d'écaillés infra- ou supra-staminales (rares exceptions)

Sous-famille

Cerberoidées

PLUMERIOIDEES

Echitoidées

Péricarpe charnu, au moins en profondeur (la partie superficielle pouvant former une assise scléreuse)

Péricarpe sec, au moins en profondeur (la partie superficielle pouvant former un mésocarpe charnu)

Anthères fertiles jusqu'à la base

Anthères caudées à la base

Anthères à filets développés non adnées, rarement caudées
Pas de poils post-staminaux
Ovaire 2-5 loculaire
Fruit inerme

Baie indéhiscente (simple ou composée)
Graines sessiles

Fruit charnu déhiscent
Graines brièvement futilculées

Baie indéhiscente
Graine sans arille ni sillon ventral

Fruit charnu déhiscent
Graine arrilée avec profond sillon ventral

Fruit sec déhiscent (sauf Geissospermum)

Fruit sec indéhiscent charnu en surface ou rarement sec

Anthères sessiles, adnées, caudées
Touffes de poils post-staminaux
Ovaire uniloculaire
Fruit sec déhiscent

Tribu

CARISSEES

Chilocarpées

Ambélianées

Tabernaemontanées

Alstoniées

Rauvolfiées

Allamandées

TABLEAU N° 1

A cette époque, l'auteur (38) note l'aspect hétérogène des Plumérioidées et, faisant ressortir les particularités des genres *Cerbera* et voisins en ce qui concerne l'androcée, les détache des Plumérioidées pour former une nouvelle sous-famille :

— Les Cerberoïdées.

Mais en août 1948, dans un nouveau mémoire, M. PICHON (39), au terme d'études sur les Echitoïdées, élimine la graine comme élément de diagnose, sa morphologie et sa structure n'étant pas absolument constantes dans cette sous-famille, et par conséquent supprime la sous-famille des Tabernaemontanoïdées qui ne peut être définie essentiellement que par sa graine arillée.

Ce groupe est alors rabaissé au rang de simple tribu des Plumérioidées, et prend le nom de Tabernémontanées.

Selon M. PICHON, la famille des Apocynacées ne compte donc plus que trois sous-familles, désormais définies uniquement par l'androcée :

I — Les PLUMERIOIDEES

II — Les CERBEROIDEES

III — Les ECHITOIDEES.

Le genre *Picralima* est classé dans la sous-famille des Plumérioidées, caractérisées par des anthères à connectif ne portant pas de rétinacle, à loges collatérales et à indéhiscence introrse ou subintrorse, le tube de la corolle étant dépourvu d'écaillés staminales.

On y trouve des genres à fruit sec, et des genres à fruit charnu, ce dernier pouvant être une baie ou une drupe.

C'est d'ailleurs essentiellement dans les caractères du fruit que réside la clef naturelle de classification de la sous-famille des Plumérioidées en sept tribus : Carissées, Chilocarpées, Ambélaniées, Tabernémontanées, Alstoniées, Rauvolfiées et Allamandées. Toutefois, pour faciliter encore la diagnose, une clef artificielle fait appel à la graine, ce qui permet de séparer immédiatement les Tabernémontanées à graine arillée, des six autres tribus à graine sans arille.

Dans la tribu des Carissées, à laquelle appartient le genre *Picralima*, le fruit est toujours une baie indéhiscente, simple ou composée, et le pollen par suite toujours petit (moins de 40 μ de diamètre), la taille du pollen variant avec la nature du fruit, à quelques exceptions près (38).

Les anthères sont fertiles jusqu'à la base, ce qui permet de séparer les Carissées des Ambélaniées, les anthères de ces dernières étant caudées à la base.

Tribu

Sous-tribu

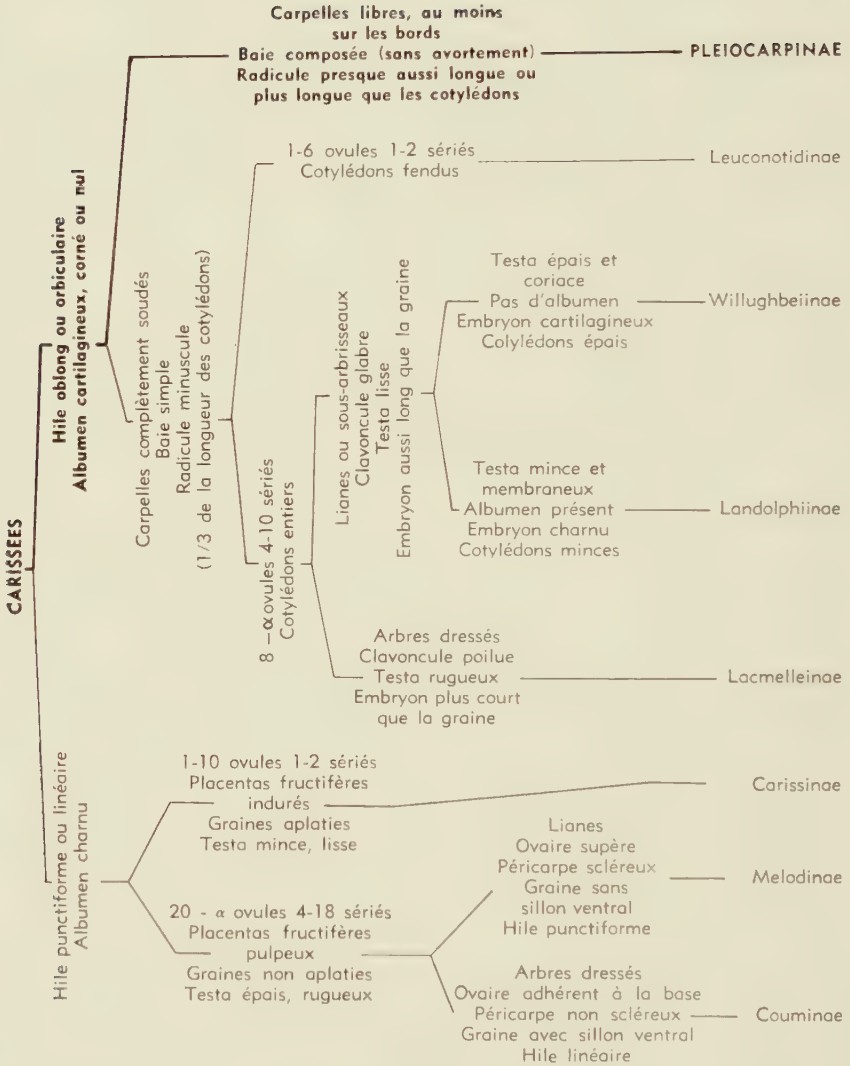


TABLEAU N° 2

Les sous-tribus qui composent la tribu des Carissées sont définies en grande partie par la graine ; elles sont au nombre de huit : Couminae, Melodinae, Carissinae, Lacmelleinae, Landolphiinae, Willughbeïinae, Leuconotidinae, Pleiocarpinae.

Les Chilocarpinées à fruit déhiscent, primitivement sous-tribu des Carissées, dont l'indéhiscence du fruit est un caractère essentiel, en ont été détachées et élevées au rang de tribu, prenant le nom de Chilocarpées.

Dans la graine des Pleiocarpinées, sous-tribu où se situe le genre *Picalima*, le hile est oblong ou orbiculaire, et l'albumen cartilagineux, corné ou nul ; les carpelles sont libres, au moins sur les bords, et le fruit est une baie composée (sauf avortement). D'autres caractères sont remarquablement constants : rameaux, feuilles et inflorescences parfaitement glabres ; bourgeons écailleux comme chez les autres Carissées.

La nervation des feuilles joue un rôle très important dans la systématique des Pleiocarpinées ; on peut distinguer deux types de nervation assez tranchés (41) :

— Le type *Tetradoa* : nervures secondaires peu nombreuses, espacées, très incurvées, très rarement droites ; celles de la base fortement ascendantes ; nervure marginale peu marquée, les nervures tertiaires s'y anastomosant.

— Le type *Hunteria* : nervures secondaires nombreuses, serrées, peu incurvées, presque toujours droites ; celles de la base peu ascendantes ; nervure marginale très marquée, les nervures secondaires s'y anastomosant.

Les sept genres de la sous-tribu des Pleiocarpinées sont répartis entre ces deux groupes.

Picalima, *Hunteria*, *Pleuranthemum* et *Comularia* présentent une nervation du type *Hunteria*.

Tetradoa et *Carpodinosia*, une nervation du type *Tetradoa*.

Pleiocharpa est le seul genre à posséder l'un ou l'autre de ces types de nervation.

Le *Picalima nitida* enfin, à nervation type *Hunteria*, est la seule espèce du genre.

Une telle affirmation n'a pu être formulée qu'à la suite de nombreux travaux qu'il est nécessaire de résumer ici :

— O. STAPF avait réuni au genre *Picalima* deux Apocynacées africaines, qui auparavant faisaient partie du genre *Polyadoa* (61), (62) : *Polyadoa Elliotii* Stapf, et *Polyadoa umbellata* (K. Schum.) Stapf.

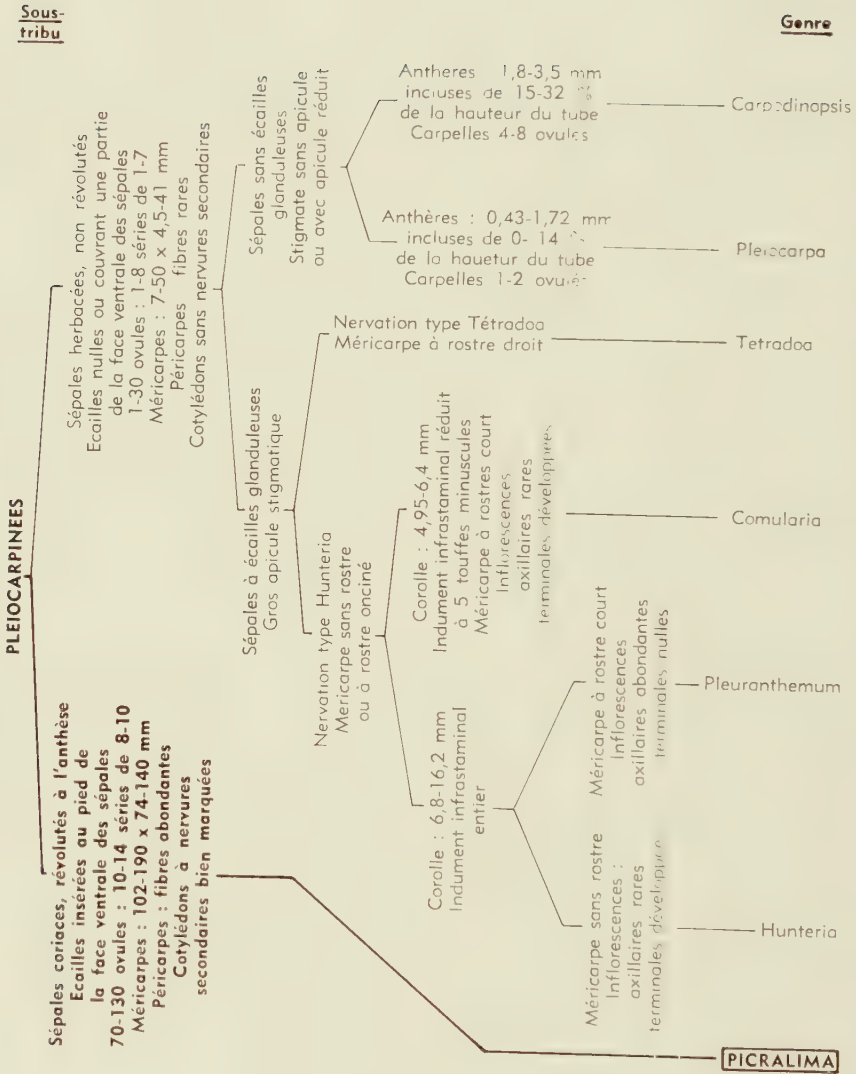


TABLEAU N° 3

— Par la suite, A. CHEVALIER (11) signale trois espèces nouvelles :

- *Picalima macrocarpa*.
- *Picalima gracilis*.
- *Picalima laurifolia*.

— J. HUTCHINSON et J.-M. DALZIEL seront conduits, en 1931 (20), à différencier les trois espèces suivantes :

- *Picalima nitida* Th. et Hél. Dur. = *Picalima klaineana* Pierre = *Picalima macrocarpa* A. Chev.
- *Picalima umbellata* Stapf = *Polyadoa umbellata* Stapf = *Picalima gracilis* A. Chev.
- *Picalima Elliotii* Stapf = *Polyadoa Elliotii* Stapf.

— Mais A. AUBREVILLE, en 1936 (3) ne décrit plus que deux espèces :

- *Picalima nitida* Th. et Hél. Dur.
- *Picalima Elliotii* Stapf.

Il est vrai que l'auteur limite ses investigations à la flore forestière de la Côte d'Ivoire.

— En 1948, M. PICHON rétablit le genre *Polyadoa*, car il dénombre une vingtaine de caractères différentiels pour distinguer le genre *Polyadoa* du genre *Picalima* (40). D'ailleurs, l'auteur pense pouvoir intégrer ces *Polyadoa* dans le genre *Hunteria*, la seule différence absolue entre les deux genres résidant dans le nombre d'ovules (9 à 30 chez *Polyadoa*, 2 ou 3 chez *Hunteria*), différence unique qui ne saurait être générique.

— Dans la seconde édition de la Flore forestière de la Côte d'Ivoire, A. AUBREVILLE, en 1959, réduit finalement le genre *Picalima* à une seule espèce, *Picalima nitida* (Stapf) Th. et Hél. Dur. : c'est l'*Obero* du Gabon, répandu depuis le Congo jusqu'à l'Ouganda, avec la Côte d'Ivoire comme limite occidentale (4).

— Tout dernièrement, HUTCHINSON et DALZIEL ont tenu compte de tous ces travaux, et précisent l'existence (21) d'un seul *Picalima* : *P. nitida* = *Tabernaemontana nitida* (Stapf) = *Picalima klaineana* Pierre = *Picalima macrocarpa* A. Chev., tandis qu'ils annexent, comme l'avait souhaité PICHON, *Polyadoa Elliotii* et *Polyadoa umbellata* au genre *Hunteria* qui compte désormais 5 espèces :

- *H. camerunensis* K. Schum ex Hallier.
- *H. Simii* (Stapf) H. Huber (= *Picalima laurifolia* A. Chev.).
- *H. eburnea* Pichon (= *Picalima gracilis* A. Chev.).
- *H. Elliotii* (Stapf) Pichon (= *Polyadoa Elliotii* (Stapf)).
- *H. umbellata* (K. Schum) (= *Polyadoa umbellata* (K. Schum) (Stapf)).

Notons dès à présent que l'étroite parenté entre *Hunteria eburnea* Pichon, ou *Demouain* de la Côte d'Ivoire, et le *Picalima nitida* ou *Obero*, incite AUBREVILLE à appeler le *Picalima* « *Demouain* à gros fruits ».

B -- Caractères morphologiques du *Picalima nitida*.

Le *Picalima nitida* est un arbre de 4 à 25 mètres de haut. Le tronc, cannelé sur toute sa longueur, peut atteindre 40 cm. de diamètre. Les rameaux par contre, sont grêles, très ramifiés et ascendants, aboutissant à une cime dense.

L'écorce du tronc, épaisse de 6 à 8 mm., est dure, fibreuse, et ocracée; le bois, jaune pâle, très dur, élastique: l'écorce de racine brun clair.

Les feuilles, d'un vert sombre, sont toutes opposées, à limbe acuminé, et à nervation du type *Hunteria*: nervures secondaires nombreuses, réparties en 14 à 24 paires, serrées, s'anastomosant à la nervure marginale, qui de ce fait, est très saillante.

Les inflorescences sont constituées par des ombelles étagées et verticillées, surtout terminales, quelques fois axillaires. La fleur, blanche ou blanc-jaunâtre (mai-juin), généralement pentamère, est fortement individualisée au sein des Pleiocarpinées:

— Le calice est formé de sépales coriaces, tous ou au moins les externes, à bords ou sommet révolutés à l'anthèse: des écailles bien développées sont insérées à la base de la face ventrale des sépales.

— La corolle forme un tube coriace, ne s'épanouissant qu'au deux tiers de sa longueur.

— L'androcée est composé d'anthères fertiles jusqu'à la base, longues de 2.7 - 3.2 mm., portées à 65-70 % de la hauteur du tube de la corolle.

— Le gynécée est formé de deux carpelles; alors que l'ovaire est généralement apocarbe chez les Pleiocarpinées, il est syncarpe jusqu'au sommet, le long de l'axe, chez le *Picalima nitida*. 70 à 130 ovules y sont répartis en 10 à 14 séries de 8-10.

Le fruit (récolté en novembre) est une baie volumineuse: 102-190 x 74-140 mm., largement ellipsoïde, jaune orangé à maturité, finement ridée sur sa longueur, et pouvant peser plus de 1 kg. Le péricarpe charnu, très riche en latex et à fibres abondantes, renferme une centaine de graines (70-130) en moyenne, dont le poids total représente 15 à 20 % du poids de la baie.

Notons que le fruit du *Demouain*, *Hunteria eburnea* Pichon, est arrondi, mesure seulement 4 à 5 cm. de diamètre, et ne renferme qu'une douzaine de graines.



Picralima nitida.

(Collection I. D. E. R. T. - Abidjan - Côte d'Ivoire).

La graine, 13 à 40 mm. de long sur 8 à 23 mm. de large, aplatie et entourée d'un tégument translucide, présente un hile orbiculaire, un albumen blanchâtre compact, et, particularité essentielle, des cotylédons à nervures secondaires bien marquées.

Toutes les parties de la plante, enfin, sont extrêmement amères, et cette sensation est suivie, en ce qui concerne les écorces et les graines, d'une légère anesthésie de la muqueuse buccale.

C -- Distribution géographique et utilisation en thérapeutique indigène.

Le *Picralima nitida* se rencontre exclusivement dans les forêts tropicales et équatoriales de l'Afrique.

Les indigènes de la Gold Coast le désignent sous le nom vernaculaire d' « akuamma », et en utilisent les diverses parties botaniques pour combattre la malaria et la dysenterie.

Connus sous le nom de « kanwené », le fruit et les graines servent à fournir un poison de flèches chez les Wassaws.

Il a été trouvé également en Côte d'Ivoire (dans les régions d'Agboville et d'Abidjan) ; au Cameroun français (entre Yaoundé et Dengdeng) ; au Gabon où il est appelé « aguembé » en Pahouin, dans la région de Libreville ; au Congo français, sur le Kouilou inférieur, sous le nom vernaculaire d' « Obero », et dans d'autres régions voisines : Congo belge, Angola, République Centre-Africaine et Ouganda.

Dans ces diverses contrées, il est utilisé également en thérapeutique populaire : tonique défatigant et antidysentérique par ses graines ; vermifuge, fébrifuge et antimalarique par l'écorce.

Après E.M. HOLMES (19) qui eut le mérite, en 1915, d'attirer l'attention des physiologistes sur cette plante, des études pharmacologiques ont été entreprises par RAYMOND-HAMET (44), (45), (46), (47), (48) : les propriétés antimalariques et antidysentériques n'ont pu être mises en évidence. Seule, l'action psychotonique défatigante, et anesthésique locale, observée empiriquement, a été confirmée.

CHAPITRE II

ETUDE CHIMIQUE

HISTORIQUE

En 1915, HOLMES note la présence d'alcaloïdes dans les graines du *Picralima nitida* (19).

Dix ans plus tard, le pharmacien belge CLINQUART (12), (13), extrait des graines une substance cristallisée mal définie dont il décrit les réactions colorées. Il étudie brièvement les autres parties de la plante, y reconnaît la présence d'alcaloïdes, mais ne parvient pas à en isoler de composés définis.

C'est en 1932 (17) que le chercheur britannique T.-A. HENRY, après une étude préliminaire pratiquée avec T.-M. SHARP en 1927 (18), isole des graines du *Picralima nitida* huit alcaloïdes cristallisés, auxquels il attribue des appellations dérivant du nom vernaculaire « akuamma » : *akuammine*, *akuammicine*, *pseudo-akuammicine*, *akuammigine*, *pseudo-akuammigine*, *akuammidine*, *akuammiline* et *akuamménine* (ce dernier en très faible quantité, à l'état de picrate).

Il faut attendre 1962 pour que L. OLIVIER, J. LÉVY, J. LE MEN et M.-M. JANOT, séparent des graines un nouvel alcaloïde, la *picaline* (35).

A la même époque, G.-F. SMITH et ses collaborateurs, en Grande-Bretagne, isolent, à côté de la picaline, un alcaloïde qui n'est autre que la *désacétyl-picaline* (10).

Au moment où ce travail a été entrepris, dix alcaloïdes des graines du *Picralima nitida* étaient donc connus, et aucun des autres organes de la plante n'avait fait l'objet de recherches approfondies.

**

Les échantillons des diverses parties de la plante ont été récoltés par la mission BOUQUET-DEBRAY, à Adiopodoumé et Bonoua (Côte d'Ivoire).

ETUDE DES GRAINES

A -- TRAVAUX ANTERIEURS :

En 1926, le pharmacien belge CLINQUART (12) entreprend l'étude des graines. Celles-ci sont traitées par une solution alcoolique d'acide tartrique ; l'alcool est éliminé et le résidu, alcalinisé par de l'ammoniaque dilué, est épuisé par le benzène : ce solvant entraîne un alcaloïde que CLINQUART obtient à l'état cristallisé, et qui sera ultérieurement identifié à l'*akuammine*.

En 1927, HENRY et SHARP améliorent la technique de CLINQUART par un dégraissage préalable (13) au moyen d'éther de pétrole. La poudre ainsi dégraissée est ensuite épuisée par l'alcool à 95°. Après élimination du solvant, le résidu est repris par une solution aqueuse d'acide chlorhydrique à 2 %, et cette solution, alcalinisée par du carbonate disodique, permet d'obtenir un précipité alcaloïdique qui, après dessiccation sous pression réduite, est épuisé à chaud par de l'éther.

La solution extractive éthérée laisse déposer de l'*akuammine* cristallisée, puis un précipité de bases amorphes. Ces bases, mises en solution aqueuse sulfurique diluée, permettent d'obtenir du sulfate d'*akuammine* cristallisé.

Ces auteurs notent que la partie non cristallisable en solution sulfurique diluée possède un pouvoir rotatoire élevé : — 737° dans l'alcool ; elle sera identifiée par la suite à l'*akuammicine*.

Dès 1932, T.A. HENRY, modifiant la première méthode utilisée, parvient à isoler huit produits définis (17).

La poudre de graines est traitée par l'éther de pétrole qui entraîne une première fraction d'alcaloïdes peu polaires. Une solution benzénique de ces derniers est soumise à un épuisement progressif au moyen d'acide chlorhydrique dilué, ce qui permet d'isoler successivement les chlorhydrates de *pseudo-akuammicine* et d'*akammicine*.

La poudre est ensuite lixiviée par l'alcool à 95° : les bases extraites par ce solvant et mises en solution chlorhydrique, sont purifiées par précipitation au moyen de carbonate disodique, et épuisées dans un appareil de SOXHLET par de l'éther renfermant 3 % d'éthanol.

L'*akuammine* et l'*akuammidine* sont successivement obtenues par concentration de l'extractum éthéro-alcoolique.

Cet extractum est alors amené à siccité, et une solution benzénique du résidu, soumise à un épuisement fractionné par de l'acide chlorhydrique dilué, permet d'isoler d'une part les chlorhydrates d'*akuammigine* et d'*akuammidine*, tandis que les chlorhydrates d'*akuammicine*, de *pseudo-akuammicine*, de *pseudo-akuammigine* et d'*akuammiline* coprécipitent. De nombreuses cristallisations de ces chlorhydrates dans l'eau et l'éthanol permettent de les séparer.

D'autre part, les « eaux-mères » benzéniques sont à leur tour amenées à siccité, et le résidu repris dans l'éthanol est additionné d'acide picrique, ce qui permet d'isoler, par cristallisation fractionnée, successivement les picrates de *pseudo-akuammigine* et d'*akuamménine*.

Il faut souligner la grande habileté expérimentale de T.-A. HENRY, car la résolution des mélanges complexes obtenus n'était possible, à l'époque, que par l'utilisation minutieuse des méthodes de salification, de cristallisation et de dissolution fractionnées.

En 1960, J. LÉVY, J. LE MEN et M.-M. JANOT modifient la méthode de HENRY, en appliquant à la résolution des mélanges la technique de chromatographie sur colonne d'alumine.

On trouvera dans la thèse de J. LÉVY (30) le détail de la méthode suivie. Retenons que le traitement par l'éther de pétrole, suivi de chromatographie des alcaloïdes sur colonne d'alumine, permet l'isolement de la *pseudo-akuammigine* et de l'*akuammicine*.

Ce traitement par l'éther de pétrole est suivi d'un second épuisement au moyen d'éther, de la poudre alcalinisée par de l'ammoniaque. L'*akuammine* qui précipite dans le ballon de l'extracteur, est séparée tandis que les autres alcaloïdes sont soumis à une chromatographie sur colonne d'alumine. La *pseudo-akuammigine*, l'*akuammicine*, l'*akuammigine*, l'*akuammidine*, l'*akuammine* et la *picraline* sont successivement obtenues grâce à l'emploi d'éluants de polarité croissante.

Par cette technique, la *pseudo-akuammicine*, l'*akuammiline* et l'*akuamménine* n'ont pu être isolées. La chromatographie, utilisée à un stade très précoce de l'extraction permet déjà une séparation efficace, et incite à pratiquer des fractionnements préalables du totum alcaloïdique.

Enfin, sans donner le détail de la méthode utilisée, G.-F. SMITH et A.-Z. BRITTEN signalent l'extraction, à côté de la *picraline*, de la *désacétyl-picraline* (10). Ce même alcaloïde a été récemment identifié à la *burnamine*, alcaloïde de l'*Hunteria eburnea* (63).

B -- TRAVAUX PERSONNELS :

La méthode retenue s'efforce de mettre à profit les avantages d'un fractionnement préalable du bloc alcaloïdique, et ceux, irremplaçables, de la chromatographie sur colonne d'alumine.

Le tableau n° 4 résume les opérations effectuées.

1°) Dégraissage de la poudre de semences :

Le dégraissage au moyen d'éther de pétrole des graines pulvérisées est indispensable : d'une part, il débarrasse la poudre de la quasi-totalité des graisses, et d'autre part, il permet l'isolement précoce de bases faibles et particulièrement sensibles à l'oxydation.

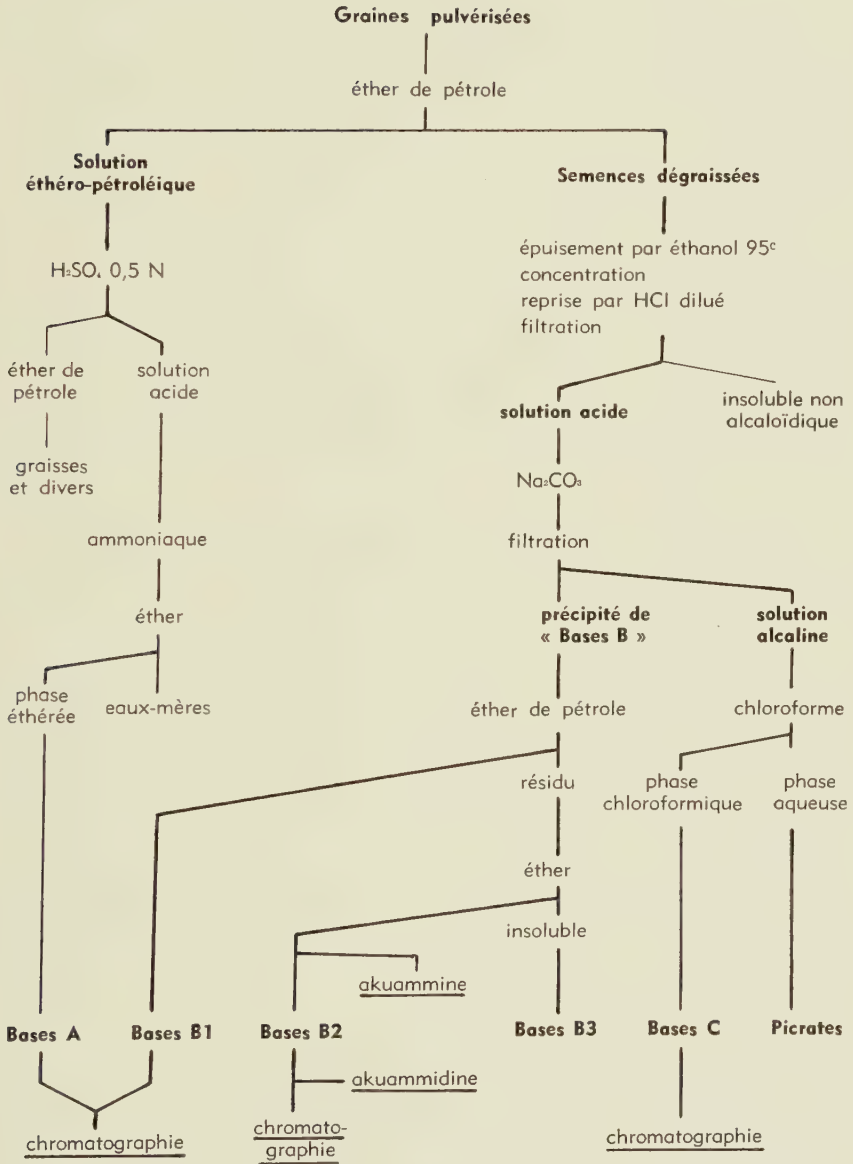
La poudre est répartie dans trois allonges, et l'épuisement est réalisé systématiquement en cascades, ce qui permet de diminuer les volumes, et de mettre de côté les premières fractions les plus riches en alcaloïdes. Seules les solutions les moins riches sont concentrées.

Les alcaloïdes sont rassemblés par un épuisement systématique également en cascades, au moyen d'une solution d'acide sulfurique 0,5 N *. Les solutions acides sont dégraissées au moyen d'éther de pétrole, puis alcalinisées par l'ammoniaque, et épuisées au moyen d'éther. Ce dernier, lavé à l'eau jusqu'à neutralité, séché sur sulfate de sodium et distillé jusqu'à siccité, permet d'obtenir les « Bases A ».

2°) Epuisement de la poudre dégraissée : Alcaloïdes bruts.

La poudre ainsi traitée, est épuisée de façon exhaustive par lixiviation au moyen d'éthanol à 95°. Les solutions alcooliques sont concentrées à 50°-60°, sous vide, dans un évaporateur rotatif. Elles laissent subsister un résidu brun-rougeâtre, à consistance d'extrait mou, de saveur très amère. Ce résidu est soumis à l'action de l'acide chlorhydrique 0,5 N, à chaud, dans lequel il se dissout partiellement. La suspension ainsi obtenue est filtrée sur kieselguhr. L'insoluble non alcaloïdique, et dont l'étude n'a pas été poursuivie, développe une coloration verdâtre, puis violette, par addition du réactif de LIEBERMANN, et doit donc comporter des substances terpéniques ou stéroïdiques.

* On observe au cours de cette opération, la formation d'émulsions tenaces qui ne cèdent qu'à une décantation prolongée ou à l'action du vide. D'autre part, l'évaporation de l'éther de pétrole, après épuisement, laisse subsister un résidu graisseux, semi-solide, brun-jaunâtre et d'odeur particulièrement vireuse.



Le filtrat, limpide, de couleur brun-clair, donne une réaction fortement positive avec le réactif de VALSER-MAYER.

Le déplacement des alcaloïdes-bases à partir de cette solution chlorhydrique est réalisé par addition progressive d'une solution aqueuse saturée de carbonate disodique.

Afin d'éviter l'emploi de trop grandes quantités de solvants d'extraction, les bases alcaloïdiques insolubles (« Bases B ») sont séparées par filtration.

L'extraction au moyen du chloroforme, du filtrat alcalin, fournit les « Bases C ».

Cependant, il est impossible de réaliser un épuisement total par le chloroforme, et la solution aqueuse renferme encore des alcaloïdes qu'il est possible d'isoler, après acidification par l'acide acétique, sous forme de picates insolubles. Leurs caractères de solubilité semblent indiquer qu'il s'agit là d'alcaloïdes à groupement ammonium quaternaire.

3°) Traitement des « Bases B » :

Elles sont placées dans l'extracteur d'un appareil de SOXHLET, et épuisées successivement au moyen d'éther de pétrole, puis d'éther.

L'éther de pétrole permet d'obtenir les « Bases B1 », qui sont jointes aux « Bases A » provenant du dégraissage par l'éther de pétrole. L'ensemble constitue donc les « Bases A + B1 ».

Au cours de l'épuisement par l'éther, apparaît un précipité d'*akuammine* dans le ballon de l'appareil: les alcaloïdes restés en solution constituent les « Bases B2 ».

La fraction des « Bases B » insoluble dans l'éther (« Bases B3 »), est constituée par des alcaloïdes extrêmement polaires, dont l'étude n'a pas été poursuivie.

4°) Traitement des fractions obtenues : « A + B1, B2, C ».

— « Bases A + B1 » :

Ces alcaloïdes peu polaires sont solubilisés dans le cyclohexane et soumis à une chromatographie sur colonne d'alumine.

L'*akuammicine* est éluée par le mélange benzène-cyclohexane à parties égales.

Un mélange de cet alcaloïde avec la *pseudo-akuammigine*, résolu ensuite par cristallisation fractionnée, est élué dans les fractions benzéniques.

Les fractions éluées par le mélange benzène-éther 90 : 10, sont constituées par un alcaloïde pratiquement pur, ainsi que le révèle leur chromatogramme sur couche mince. Il s'agit de l'*akuammidine*, qui est purifiée sous la forme de son chlorhydrate cristallisé.

— « Bases B2 » :

Elles constituent une partie importante du point de vue pondéral. Leur reprise par l'éther laisse déposer un précipité cristallin constitué par de l'*akuammidine* pratiquement pure.

Après évaporation jusqu'à siccité de la solution éthérée, le résidu est repris par le benzène, et cette solution benzénique est soumise à un premier passage sur colonne d'alumine. Les fractions éluées par un même solvant sont rassemblées, concentrées, et chromatographiées à nouveau.

Ainsi, les fractions benzéniques de la chromatographie primitive conduisent à l'isolement d'une nouvelle quantité d'*akuammicine*, de *pseudo-akuammigine* et d'*akuammidine*, séparées par une seconde chromatographie sur colonne d'alumine.

Les fractions éthérées de la chromatographie primitive permettent d'isoler, par concentration progressive, l'*akuammine* et la *picraline*, puis par une nouvelle chromatographie, l'*akuammigine* et l'*akuammiline*, purifiées toutes deux, sous forme de chlorhydrate, et enfin la *picraline* à nouveau.

Les fractions éther-méthanol 95 : 5 de la chromatographie primitive se montrent beaucoup plus difficiles à résoudre en leurs constituants.

Il en va de même des fractions méthanoliques.

— « Bases C » :

Les « Bases C » extraites par le chloroforme, n'étant que très partiellement solubilisées par le benzène ou l'éther, leur dépôt sur la colonne est réalisé de la manière suivante : une solution de ces bases dans le chloroforme est évaporée en présence d'une certaine quantité de poudre d'alumine sur laquelle elles s'absorbent, et qui est ajoutée à la partie supérieure de la colonne.

Les fractions éluées par le mélange benzène-éther 50 : 50 renferment trois alcaloïdes : l'*akuammidine*, la *picraline* et la *désacétyl-picraline*, qui sont isolés par un second passage sur colonne d'alumine, suivi d'une cristallisation fractionnée minutieusement conduite.

Dans les tableaux n° 5 et n° 6, sont consignés les rendements (pourcentage par rapport au poids de poudre de graines) en bases brutes et alcaloïdes cristallisés, obtenus par la technique ci-dessus exposée, comparativement aux rendements obtenus par HENRY.

TABLEAU N° 5 : RENDEMENTS EN BASES BRUTES

	<i>Bases tertiaires</i>						<i>Bases quaternaires</i>
Bases %	A	B	B1	B2	B3	C	
	0.056	3,47	0,231	0,778	2.40	0.470	0.120

TABLEAU N° 6 : RENDEMENTS % EN ALCALOÏDES CRISTALLISÉS

	<i>Rendements personnels</i>	<i>Rendements de HENRY</i>
Akuammicine	0.0750	0.0064
ψ-Akuammicine	—	0.0037
Akuamménine	—	0.0006
Akuammidine	0.0396	0.0340
Akuammigine	0.0152 (HCl)	0.0100
ψ-Akuammigine	0.0297	0.0170
Akuammiline	0.0031 (HCl)	0.0107
Akuammine	0.1100	0.5600
Picaline	0.0573	..
Désacétyl-picaline	0.0016	..

CONCLUSION

La technique d'extraction ainsi que les premières opérations de séparation s'inspirent fortement de la méthode originale décrite par HENRY (17), mais l'emploi supplémentaire de la chromatographie sur colonne d'alumine, constamment dirigée par les résultats des chromatographies sur couche mince mono et bi-dimensionnelles, a permis de simplifier les méthodes de fractionnement conduisant aux alcaloïdes purs, et d'améliorer en général les rendements.

- 1 - 2 - 3 : inconnus
4 : Akuammine
5 : Akuammiline
6 : Désacétyl-picraline
7 : Picraline
8 : ψ -akuammigine
9 : Akuammicine
10 : inconnu
11 : Akuammidine
12 : Akuammigine



FIGURE 1 : *Graines : Bases tertiaires*

Huit alcaloïdes ont ainsi été séparés : *akuammicine*, *akuammidine*, *akuammigine*, *pseudo-akuammigine*, *akuammiline*, *akuammine*, *picraline* et *désacétyl-picraline*.

Par contre, la *pseudo-akuammicine* et l'*akuamménine* n'ont pas été isolées.

Aucun alcaloïde nouveau n'a été isolé, mais la chromatographie bidimensionnelle sur couche mince de l'ensemble des bases tertiaires (figure 1), laisse prévoir à elle seule au moins douze alcaloïdes. Théoriquement, il devrait être possible d'isoler encore deux alcaloïdes nouveaux, en dehors de la *pseudo-akuammicine* et de l'*akuamménine*.

ADDENDUM :
COMPORTEMENT EN CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE
DES ALCALOÏDES DES GRAINES

Les alcaloïdes purs des graines, provenant de la collection du Laboratoire de Pharmacie Galénique de la Faculté de Pharmacie de Paris, ont été utilisés de manière à mesurer leur Rf en chromatographie sur couche mince monodimensionnelle, et à repérer leur position dans les chromatographies bidimensionnelles.

1°) Rf :

Le Rf d'une substance, en chromatographie sur couche mince comme en chromatographie sur papier, représente le rapport de la distance parcourue par le produit étudié, à celle parcourue par le front du solvant.

Le tableau n° 8 rassemble les Rf, mesurés sur des plaques alcalines, avec les solvants dont la composition est la suivante (tableau n° 7).

TABEAU N° 7 : COMPOSITION DES SOLVANTS

	A	B	C	D	E
	—	—	—	—	—
Acétate d'éthyle.	100	100	—	50	100
Acétone	50	—	50	—	—
Benzène	—	100	—	50	100
Chloroforme ...	—	15	100	100	—
Méthanol	10	15	10	20	15

TABEAU N° 8 : Rf DES ALCALOÏDES PURS DANS LES DIVERS SOLVANTS

<i>Solvant</i>	A	B	C	D	E
Akuammicine ..	0,27	0,36	0,40	0,40	0,18
Akuammidine ..	0,49	0,45	0,46	0,38	0,32
Akuammigine ..	0,62	0,66	0,61	0,61	0,60
ψ-akuammigine	0,26	0,35	0,40	0,39	0,18
Akuammiline ..	0,22	0,32	0,41	0,37	0,25
Akuammine	0,21	0,25	0,35	0,23	0,11
Picaline	0,31	0,35	0,39	0,34	0,16
Désacétyl- picaline	0,29	0,32	0,36	0,32	0,15

Cependant, il est reconnu que le mode de préparation des plaques, la durée de leur conservation avant l'utilisation, la plus ou moins grande quantité d'humidité retenue à leur surface, ont une influence non négligeable sur la valeur du Rf.

Aussi la préparation et la dessiccation des supports ont-elles été conduites selon un protocole parfaitement reproductible, décrit dans la partie expérimentale.

2°) Révélation des chromatogrammes :

— Le réactif de DRAGENDORFF-MACHEBOEUF fournit avec tous ces alcaloïdes des taches de coloration brun-foncé, dont l'intensité et la surface permettent d'apprécier grossièrement la quantité d'alcaloïdes mise en œuvre.

— Une exposition du chromatogramme aux rayons ultra-violets, avant toute révélation, permet de mettre en évidence l'*akuammicine*, qui manifeste dans ces conditions une fluorescence verte.

— La révélation du chromatogramme au moyen d'un réactif au sulfate de cérium (53) fait apparaître, pour la *pseudo-akuammigine*, une coloration rouge, pour l'*akuammicine* une coloration bleu-violacé, et pour l'*akuammidine* une coloration gris-cendré. Les autres alcaloïdes ne fournissent aucune coloration, mais apparaissent sous forme d'une tache claire.

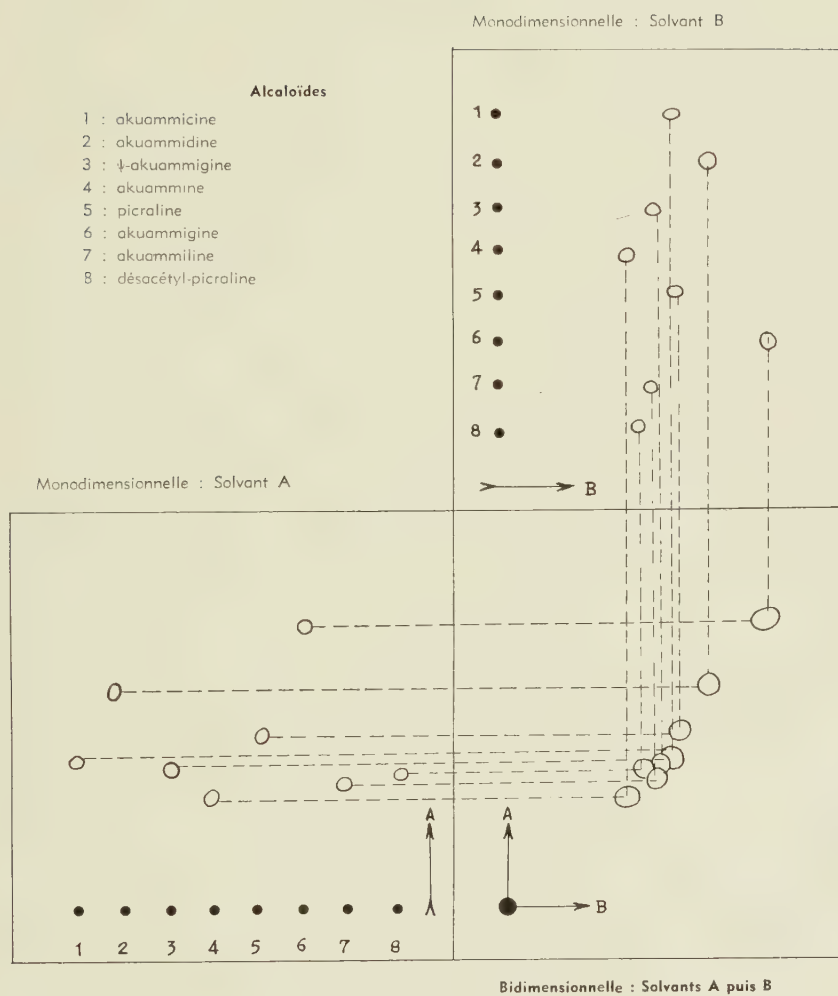


FIGURE 2

3^e) Chromatographie bidimensionnelle :

La figure 2 reproduit les résultats de trois expériences pratiquées avec trois plaques provenant d'un même lot :

Deux chromatographies *monodimensionnelles* ont été pratiquées successivement sur les alcaloïdes purs disposés séparément, la première au moyen du solvant A, la seconde au moyen du solvant B ;

— Une chromatographie *bidimensionnelle* du mélange des huit alcaloïdes purs a été réalisée, la première migration au moyen du solvant A, la seconde au moyen du solvant B.

La position de chaque alcaloïde sur la chromatographie bidimensionnelle peut ainsi être repérée avec une approximation suffisante, grâce à un véritable système de coordonnées, et aux méthodes différentielles de révélation qui viennent d'être exposées.

Pour cette expérience, plusieurs précautions ont été prises :

La distance parcourue par le front du solvant a été rendue identique dans le cas de la chromatographie bidimensionnelle et dans le cas de chacune des chromatographies monodimensionnelles :

Pour tenir compte de l'anisotropie éventuelle provoquée par la direction de l'étalement lors de la préparation des plaques, cette direction a été soigneusement repérée ;

La migration du solvant A a été effectuée parallèlement à cette direction dans la chromatographie bidimensionnelle, comme dans la chromatographie monodimensionnelle utilisant ce solvant ;

La migration du solvant B a été effectuée perpendiculairement à cette direction.

Une véritable « carte » de l'emplacement des alcaloïdes sur la chromatographie bidimensionnelle est ainsi dressée.

Ces résultats se sont avérés très précieux pour l'étude des extraits alcaloïdiques provenant des diverses parties de la plante.

ETUDE DES RACINES

A -- TRAVAUX ANTERIEURS :

A notre connaissance, l'étude des racines du *Picralima nitida* n'a jamais été entreprise par les auteurs qui ont travaillé cette plante.

B -- TRAVAUX PERSONNELS : (28)

1. Méthode d'extraction :

L'extraction a été conduite selon le procédé schématisé par le tableau n° 9.

La poudre de racines est tout d'abord lixiviée au moyen d'éther de pétrole qui extrait seulement une partie non alcaloïdique, à la différence de ce qui avait lieu dans le cas des graines. Dans ce dernier cas, la forte teneur en huile favorise l'entraînement d'une notable proportion des alcaloïdes.

La poudre est ensuite soumise à un épuisement exhaustif par une solution éthanolique d'acide acétique. Le lixiviat ainsi obtenu est concentré jusqu'à consistance d'extrait mou, repris par l'eau à chaud, et filtré.

Le filtrat, après alcalinisation par l'ammoniaque, est épuisé successivement par l'éther et par le chloroforme.

Les eaux-mères alcalines, après épuisement par le chloroforme, contiennent encore des alcaloïdes, (à caractère ammonium quaternaire), qu'il est possible de mettre en évidence par le réactif de VALSER-MAYER après acidification.

2. Traitement des alcaloïdes obtenus :

a) Chromatographie sur couche mince :

L'étude des alcaloïdes extraits par le chloroforme indique la présence d'alcaloïdes très polaires.

En revanche, l'étude chromatographique sur couche mince des bases extraites par l'éther, montre neuf taches bien délimitées (figure 3), numérotées de 1 à 9, par ordre de polarité décroissante.

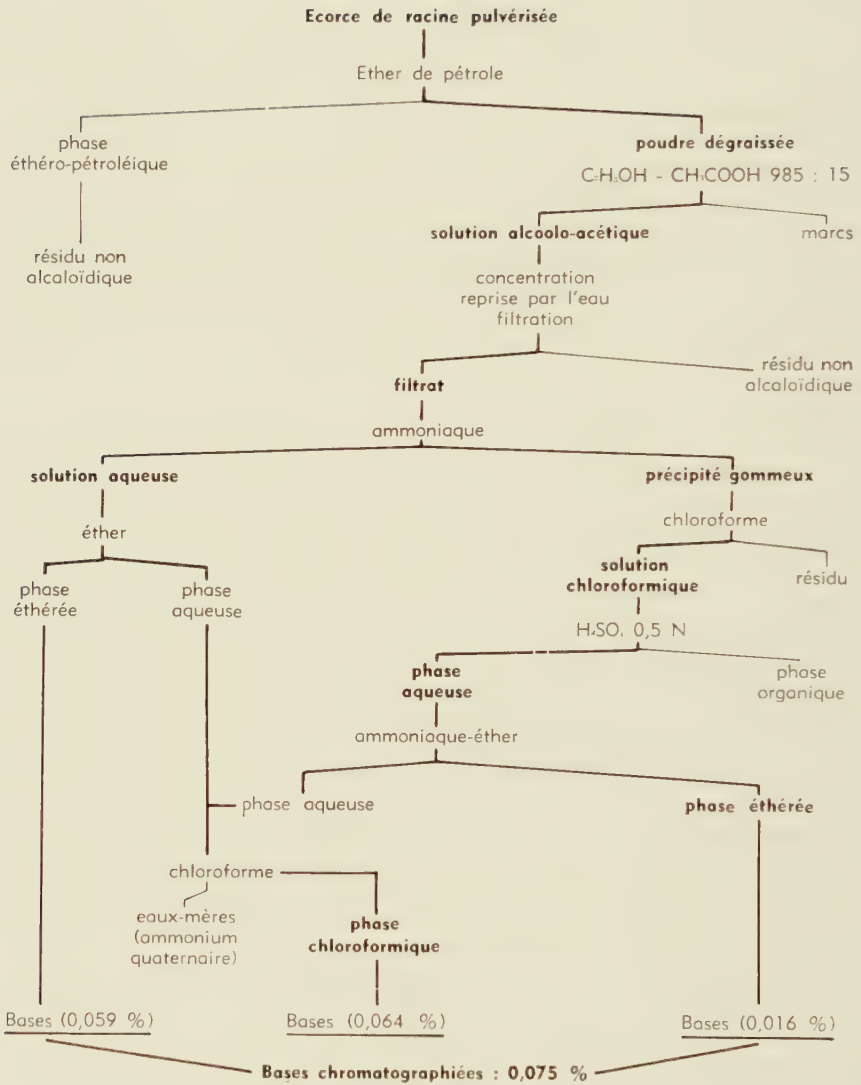


TABLEAU N° 9

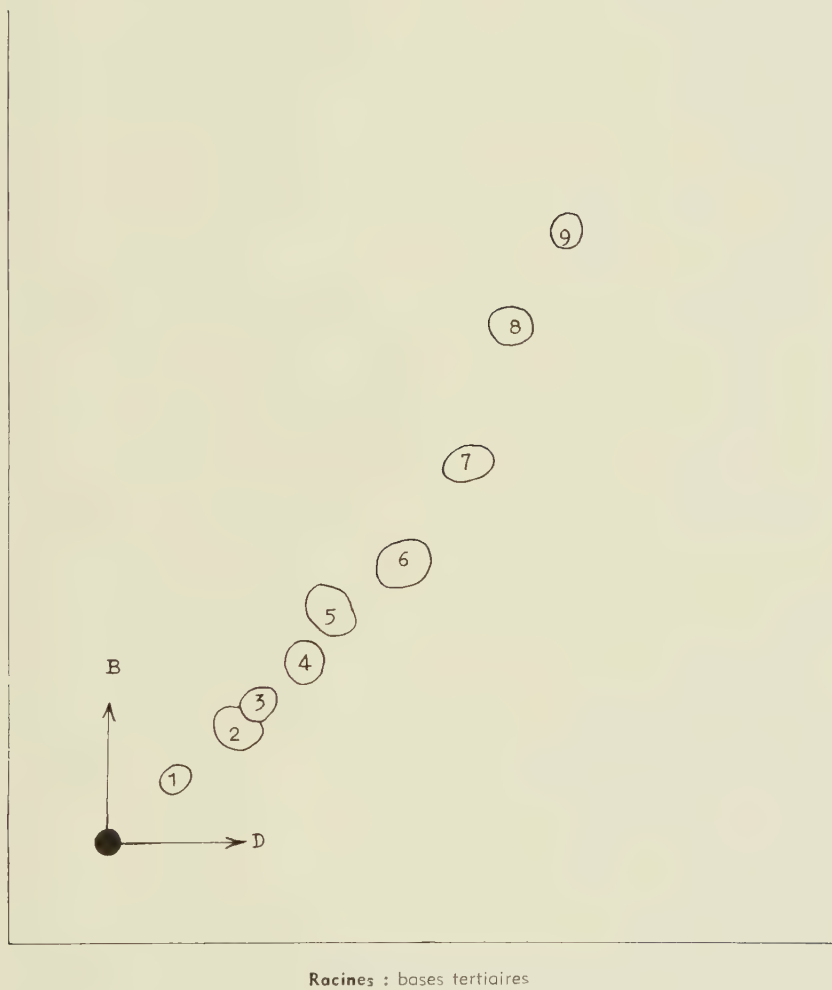


FIGURE 3

Les coordonnées des trois taches les plus intenses révélées par le réactif de DRAGENDORFF-MACHEBOEUF (taches n^{os} 4, 5, 8) semblent indiquer qu'il s'agit respectivement de *désacétyl-picraline*, de *picraline* et d'*akuammigine*.

L'absence de toute coloration après pulvérisation de réactif cérique sur une nouvelle chromatographie réalisée dans les mêmes conditions, exclut la présence d'*akuammidine*, d'*akuammicine* et de ψ -*akuammigine*.

b) Chromatographie sur colonne d'alumine :

Le bloc des alcaloïdes extraits par l'éther n'étant que très partiellement solubilisé par le cyclohexane ou le benzène, leur dépôt sur la colonne est réalisé grâce à l'artifice suivant : une solution de ces bases dans le chloroforme est évaporée en présence d'une certaine quantité de poudre d'alumine, sur laquelle elles s'adsorbent, et qui est ajoutée à la partie supérieure de la colonne.

Les fractions benzéniques permettent d'isoler un alcaloïde en très faible quantité. Ce composé cristallise difficilement de ses solutions concentrées dans l'acétone, sous forme de petites aiguilles.

Ses coordonnées en chromatographie sur couche mince correspondent à la tache n^o 6 de la chromatographie des bases totales. Son R_f, pour l'éluant B est de 0.32, et pour l'éluant D, de 0.46.

Les études ultérieures montrent qu'il s'agit d'un alcaloïde apparemment nouveau, auquel a été donné le nom de *picracine*.

Les autres fractions de la chromatographie sur colonne n'ont pas permis d'isoler d'autre alcaloïde cristallisé.

c) Etude de la *picracine* : (29)

Ce travail a été conduit sur 67 mg de *picracine* seulement. En plus de cette très faible quantité de matière première, une autre difficulté s'est présentée, à savoir l'altérabilité de la *picracine*, particulièrement en solution. C'est pourquoi les méthodes classiques d'analyse pondérale n'ont pu être appliquées, et seul l'examen minutieux des différents spectres a été mis à profit pour l'étude de cet alcaloïde.

La *picracine* fond à 145° sur la platine chauffante du microscope de KOFLER.

— Son spectre ultra-violet est typiquement indolique, avec des maximums à 227 et 284 m μ . Il n'est pratiquement pas modifié en milieu alcalin, ce qui exclut la présence d'un groupement phénolique. D'autre part, il subit un léger déplacement hypsochrome (λ max. 224

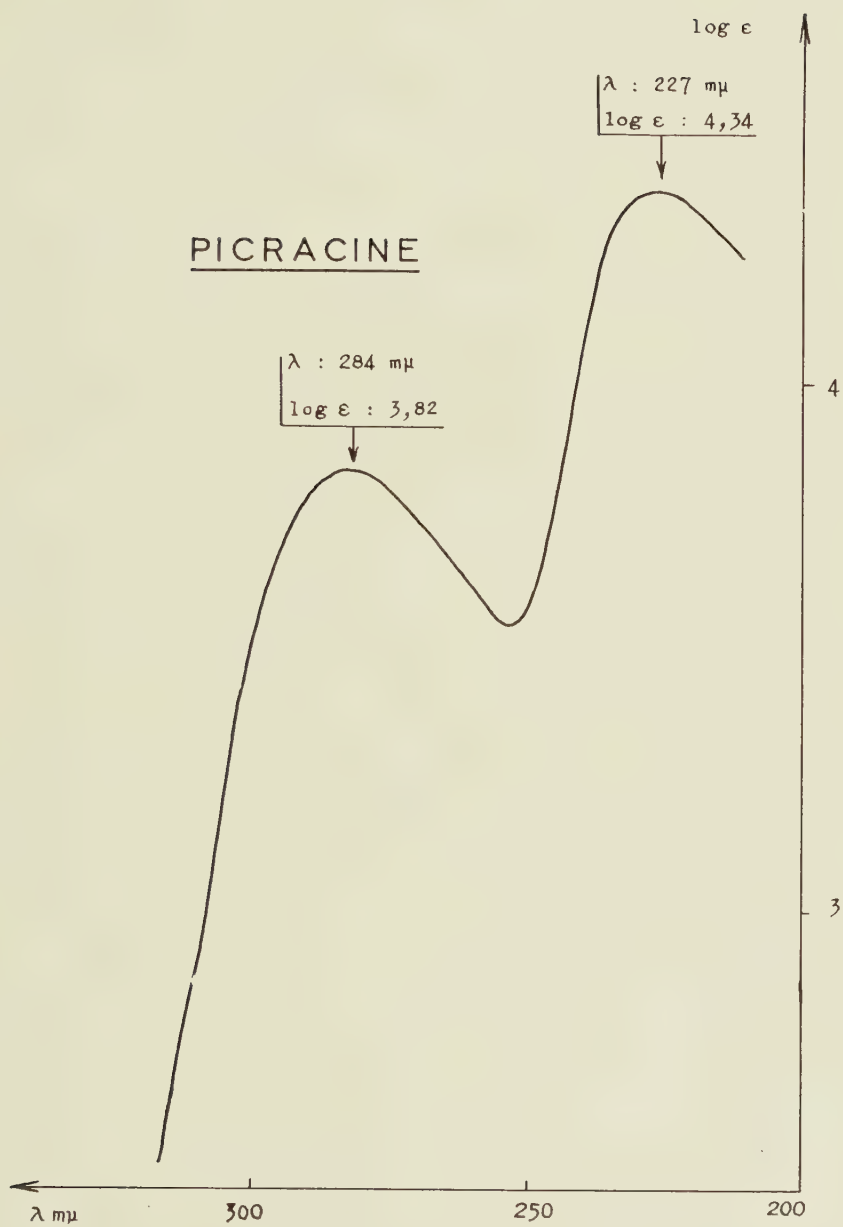


FIGURE 4

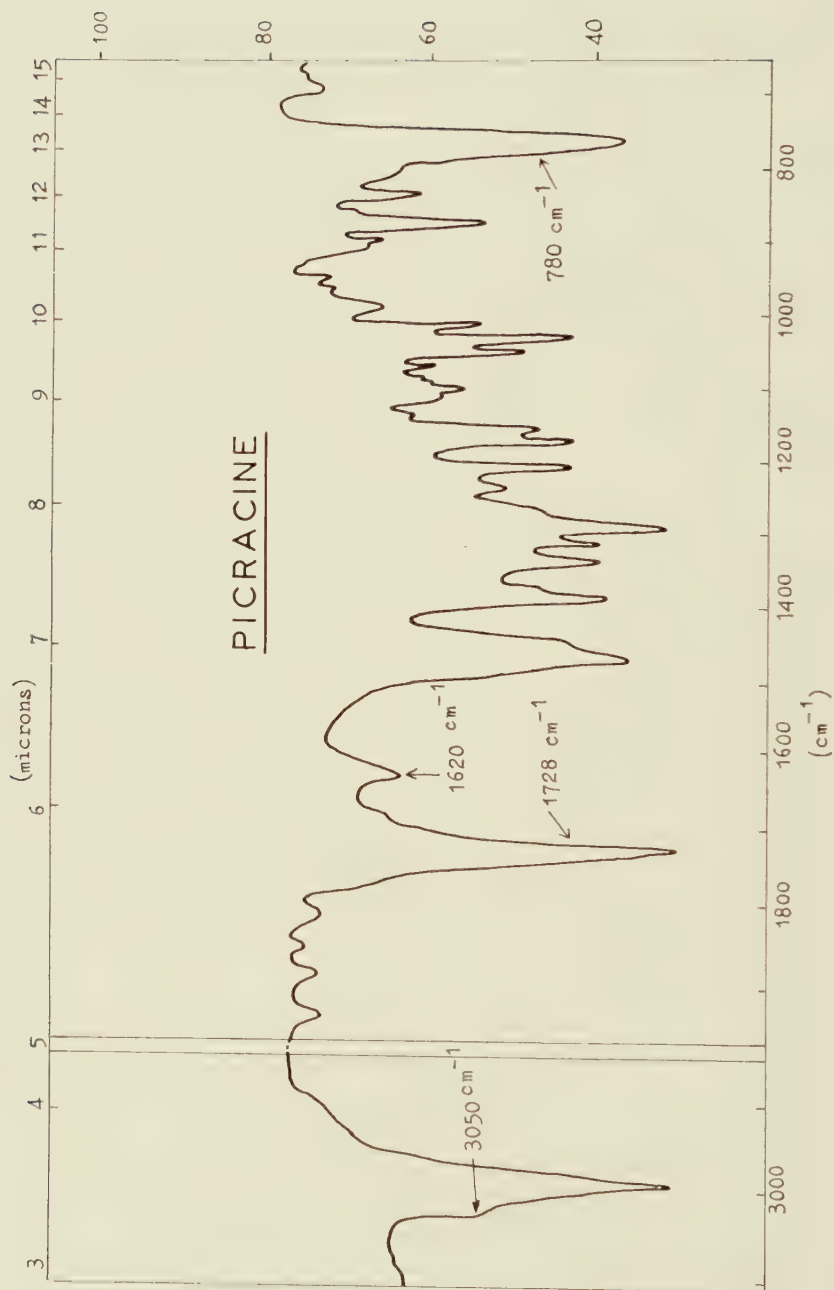


FIGURE 5

et 274 m μ) dès l'addition, à la solution éthanolique, de quelques gouttes d'acide chlorhydrique.

Le même déplacement hypsochrome est observé pour des concentrations en acide chlorhydrique atteignant 5 M (figure 4).

— Sur son spectre infra-rouge dans le chloroforme (figure 5), on note en particulier :

- une faible bande « H mobile associé » vers 3050 cm⁻¹,
- un pic à 1728 cm⁻¹, attribuable à un groupement carbonyle,
- une bande d'insaturation à 1620 cm⁻¹,
- un pic à 780 cm⁻¹ (benzène ortho-disubstitué).

— L'étude du spectre de résonance magnétique nucléaire (figure 6) de la *picracine* apporte des renseignements précieux. On y relève :

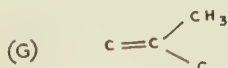
- dans la région 7-8 p.p.m. : un ensemble (A) de pics, correspondant aux quatre protons aromatiques du benzène ortho-disubstitué,
- vers 5,2 p.p.m. : un groupe complexe de signaux (2 protons) (B + C), dont l'origine sera précisée plus loin,
- à 3,95 p.p.m. : le signal (D) d'un proton imputable au groupement NH indolique,

- à 3,6 p.p.m. : un pic aigu (E) (3 protons), qui, rapproché de la présence de la bande carbonyle dans le spectre infra-rouge, indique la présence d'un enchaînement ester méthylique COOCH₃.

- dans la région 1,2 — 1,6 p.p.m. : un ensemble de trois signaux (F + G) (6 protons), indiquant la présence de deux groupements méthyle subissant un certain déplacement chimique.

L'un de ces groupements méthyle apparaît sous forme d'un singulet (G), ce qui montre qu'il est porté par un atome de carbone ne portant lui-même aucun proton.

La valeur du déplacement chimique de (G), soit 1,28 p.p.m., indique d'autre part que l'atome de carbone portant ce groupement méthyle est insaturé :



Le second groupement méthyle apparaît sous forme d'un doublet (F), centré sur 1,5 p.p.m. (J = 7 cps). Ce doublet présente une structure fine, et chacun de ses pics constitutifs se dédouble lui-même, faisant apparaître un couplage supplémentaire (J = 1,5 cps).

Un tel phénomène est observé régulièrement sur les spectres des alcaloïdes possédant un groupement éthylidène, et pour lesquels, par

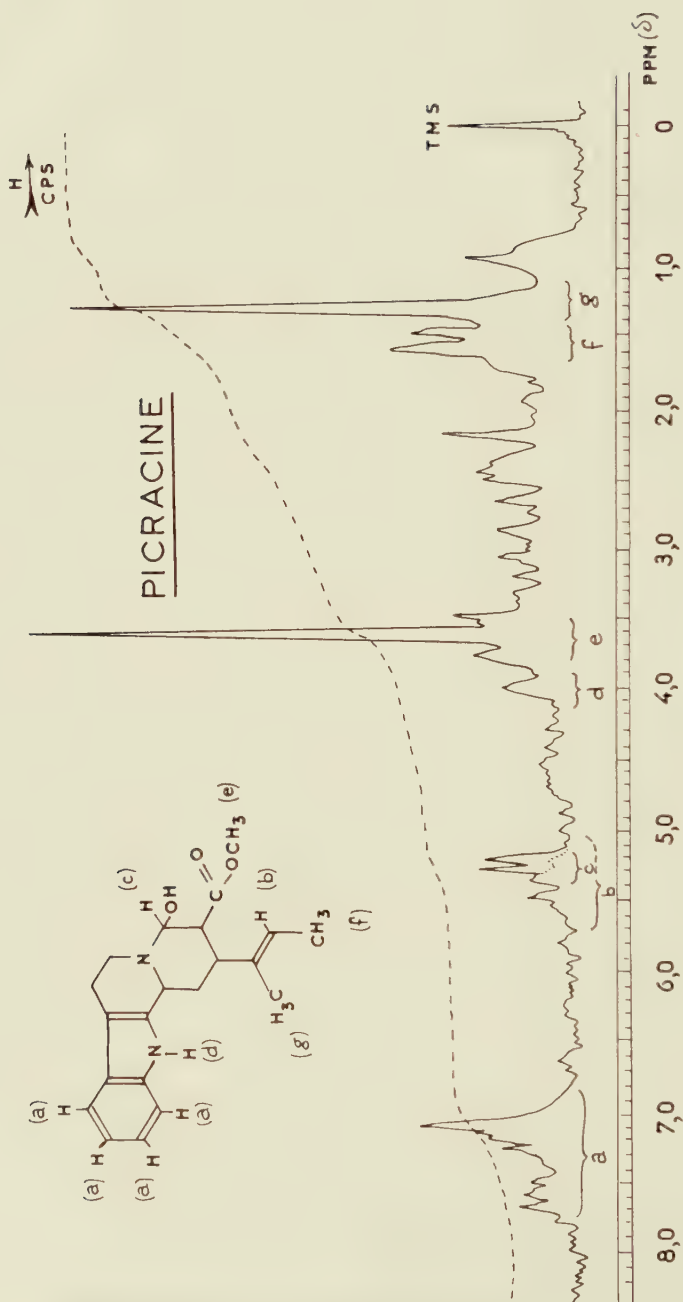
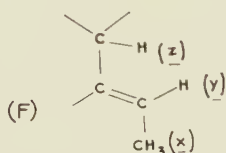


FIGURE 6

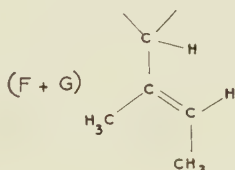
surcroît, l'enchaînement (F) est réalisé. Le proton oléfinique (y) réalise dans ces conditions un premier dédoublement du signal dû au groupement méthyle (J $\sim$ 7 cps).

xy

Un léger couplage à distance est d'autre part réalisé avec le proton (z) (J $\sim$ 1,5 cps) :



Si l'on note maintenant que le groupement méthyle générateur du singulet (G) est porté par un carbone insaturé lui-même porteur d'aucun proton, l'ensemble des signaux (F + G) indique la présence de l'enchaînement :



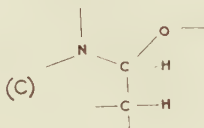
En effet, et comme nous allons le voir, selon toute vraisemblance, la molécule de *piracine* ne comporte qu'une seule double liaison (si l'on écarte la présence, très improbable, d'une seconde double liaison entièrement substituée).

Il est maintenant possible d'interpréter les signaux (B + C) (2 protons) situés aux alentours de 5,3 p.p.m.

D'une part, le proton oléfinique (y) (formule F) donne naissance à un quadruplet (B) centré sur 5,38 p.p.m., et dont seulement trois pics sont visibles. (Le quadruplet complet symétrique autour de 5,38 p.p.m., a été figuré en pointillé sur la figure 6).

D'autre part, un signal supplémentaire (C) se superpose au quadruplet (B) sous la forme d'un doublet (J = 3,5 cps) centré sur 5,22 p.p.m., et correspondant à un seul proton. La position du doublet (C) est compatible avec le déplacement chimique d'un proton porté par un atome de carbone, contigu à la fois à un atome d'azote et à un atome d'oxygène.

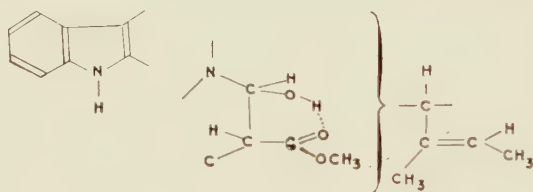
L'existence même d'un doublet indique que le proton responsable de ce signal n'est couplé qu'à un seul proton, selon l'enchaînement :



L'absence de déplacement bathochrome du spectre ultra-violet de la *picracine* en milieu acide, confirme (7) (32) le fait que le groupement (C) n'intéresse pas l'atome d'azote indolique qui, comme il a été dit plus haut, n'est probablement porteur d'aucun substituant.

Enfin, l'oxydabilité de la *picracine* est en faveur de la présence d'un groupement carbinolamine, et l'existence d'un pic « OH associé » sur son spectre infra-rouge, semble montrer que le groupement ester est voisin de cet enchaînement carbinolamine.

Ces conclusions sont rassemblées dans la formule partielle suivante :



D'autre part, sur le spectre de masse de la *picracine*, le pic de masse la plus élevée apparaît à m/e 337. Il est très vraisemblable que ce pic de masse impaire ne représente pas le poids moléculaire de la *picracine*, mais résulte de l'élimination, dans le système d'introduction de l'appareil, du groupe $-\text{OH}$ contigu à l'azote basique :



Dans ces conditions, la *picracine* aurait la formule globale $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{N}$, (P.M. $354 = 337 + 17$), et serait donc tétracyclique.

Ces éléments ne sembleraient pas, à priori, conciliables avec la structure d'un alcaloïde indolique « classique ». Cependant, en 1962, ASHER, ROBERTSON, SIM, BARTLETT, SKLAR et TAYLOR (2), ont établi au moyen du diagramme des rayons X, la structure (XIII) de l'iodo-

méthylate d'*hunterburnine* qui constituait alors le seul représentant d'un type structural nouveau.

L'hypothèse de structure (XI), basée sur le squelette de l'*hunterburnine*, est compatible avec tous les éléments de la formule partielle de la *picracine* qui vient d'être établie *.

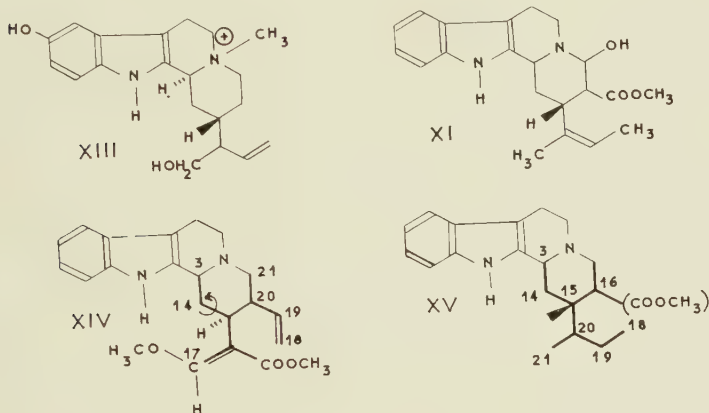


TABLEAU N° 10

En l'absence d'autres dérivés de la *picracine*, il n'est pas possible actuellement d'interpréter avec rigueur les pics du spectre de masse autres que le pic M — 17. Cependant, les pics principaux de ce spectre sont tout à fait compatibles avec la fragmentation d'une molécule telle que (XI).

De plus, TAYLOR et ses collaborateurs ont montré comment la biogénèse de l'*hunterburnine* peut être rapprochée de celle d'un alcaloïde « classique » comme la *corynanthéine* (XIV) : à la tryptamine vient s'associer dans les deux cas une même unité structurale (représentée en traits gras sur les figures).

Une rotation autour de la liaison C-14 — C-15 met en évidence l'identité de cette unité structurale dans les deux cas (cf XV) (ainsi que la conservation de la configuration absolue au niveau de C-15, qui ne constitue donc pas une exception à la règle de WENKERT (64).

Si l'*hunterburnine* ne comprend pas le groupement carbo-méthoxyle homologue du C-22 de la *corynanthéine*, un tel groupement existe par contre dans la *picracine*. L'étude des spectres nous a conduit à

* La numérotation des formules suit celle du tableau général les alcaloïdes du *Picalima*, page 82.

placer ce groupement dans la position même que lui assigne la filiation biogénétique proposée par TAYLOR.

La picracine, avec les α - et β - iodométhylates d'*hunterburnine* (54) est donc selon toute vraisemblance le troisième représentant d'un groupe nouveau d'alcaloïdes.

*
**

La faible quantité de *picracine* que nous avons isolée ne permettait pas d'en effectuer une étude chimique, qui sera entreprise dès qu'un lot nouveau de racines de *Picalima* sera mis à notre disposition.

ETUDE DES TIGES

A -- TRAVAUX ANTERIEURS :

Les travaux antérieurs concernant les tiges sont très réduits.

— CLINQUART (13), se basant sur des réactions colorées, suppose que les écorces de tronc renferment les mêmes substances que les graines. Cependant cet auteur n'ayant pas caractérisé de manière très précise les alcaloïdes des graines elles-mêmes, il est difficile de donner grand crédit à son affirmation.

— HENRY reconnaît la présence dans les écorces de tige d'alcaloïdes amorphes, et en extrait des traces d'*akuammidine* (17).

B -- TRAVAUX PERSONNELS :

Les écorces et le bois ont été étudiés séparément.

1. Extraction des alcaloïdes :

La technique d'extraction développée à propos des racines leur a été appliquée, et nous nous contenterons d'en préciser les rendements dans le tableau suivant :

TABLEAU N° 11

	<i>Ecorce</i>	<i>Bois</i>
Alcaloïdes entraînés par l'éther de pétrole	0,0128 %	0,0114 %
Alcaloïdes extraits par l'éther	0,0140 %	0,1340 %
Alcaloïdes extraits par le chloroforme	1,3000 %	0,6000 %
<i>Totum alcaloïdique</i>	1,3268 %	0,7454 %

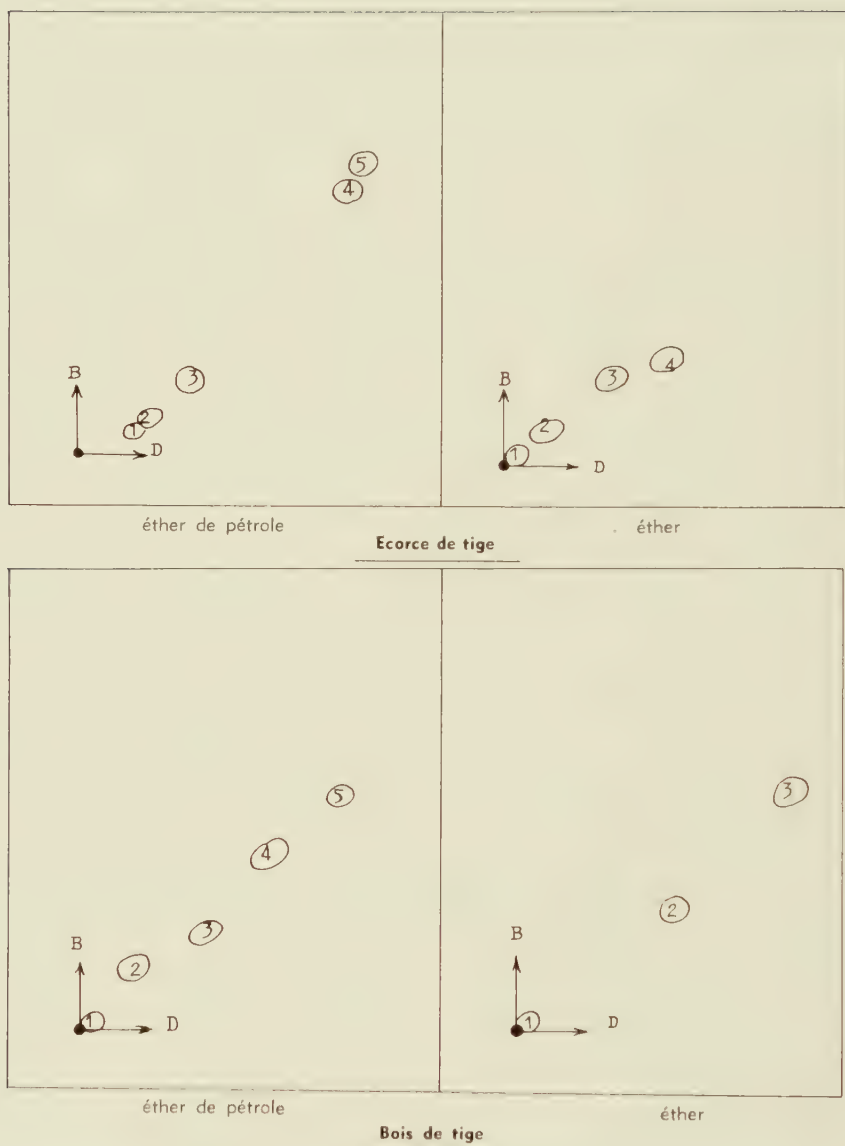


FIGURE 7

(De gauche à droite et de haut en bas : 7_a, 7_b, 7_c, 7_d).

2. Chromatographie sur couche mince de ces différentes fractions :

a) *Ecorce* :

Les bases extraites par l'éther de pétrole, et chromatographiées en deux dimensions avec les différents couples de solvants, provoquent, après pulvérisation du réactif de DRACENDORFF-MACHEBOEUF, l'apparition de cinq taches numérotées de 1 à 5, par ordre de polarité décroissante (figure 7_a).

Un chromatogramme identique est révélé au moyen du réactif au sulfate cérique.

Sur ces deux chromatogrammes, il apparaît que l'un des deux alcaloïdes peu polaires, la tache n° 4, pourrait être l'*akuammigine*; parmi les trois alcaloïdes polaires, la tache n° 3, de par ses coordonnées, peut être attribués à l'*akuammine*.

Les bases entraînées par l'éthanol en milieu acétique, et solubles dans l'éther, sont représentées par quatre taches correspondant à des substances polaires, dont l'une (tache n° 3) pourrait être encore l'*akuammine* (figure 7_b).

Les bases solubles dans le chloroforme, soit la plus grande partie, forment une tache allongée, proche du point d'origine, ce qui indique un caractère polaire très accentué.

b) *Bois* :

Les alcaloïdes entraînés par l'éther de pétrole donnent cinq taches, dont trois occupent les coordonnées de l'*akuammine*, de l'*akuammidine*, et de l'*akuammigine*, (respectivement taches n°s 3, 4, 5) (figure 7_c).

Les bases solubles dans l'éther sont représentées par trois taches, dont les coordonnées de deux d'entre elles correspondent à celles de l'*akuammigine*, et à celles d'un alcaloïde occupant une position intermédiaire entre l'*akuammidine* et la *picraline* (figure 7_d).

Les bases insolubles dans l'éther, et solubles dans le chloroforme, ne migrent pas; elles constituent la majeure partie du totum alcaloïdique.

*
**

La quantité de matière première étudiée étant très réduite, l'isolement de ces alcaloïdes n'a pu être réalisé. Cependant, ce travail préliminaire incite à entreprendre une extraction de plus grande envergure, qui permettrait en particulier l'étude des bases les plus polaires, et celle d'un alcaloïde apparemment nouveau, mis en évidence sur le chromatogramme de l'extractum provenant du bois de tige.

ETUDE DES FEUILLES

A -- TRAVAUX ANTERIEURS :

Les travaux antérieurs concernant les feuilles sont dus à CLINQUART (13) et à HENRY (17). Ces deux auteurs concluent à l'identité des alcaloïdes extraits respectivement des feuilles et des écorces de tronc, sans pouvoir isoler, à partir des feuilles, des produits cristallisés.

B -- TRAVAUX PERSONNELS : (28)

Après quelques essais préliminaires destinés à déterminer la meilleure technique d'extraction, le lot de feuilles a été soumis à un épuisement systématique permettant de séparer, d'une part des bases tertiaires, d'autre part des alcaloïdes à caractère ammonium quaternaire, abondants dans cette partie de la plante.

1. Essais préliminaires :

Les premières tentatives ont porté sur la poudre de feuilles alcalinisée par l'ammoniaque diluée. Dans ces conditions, ni la lixiviation par le chloroforme, ni l'extraction continue dans un appareil de SOXHLET, par le chlorure de méthylène, ne suffisent à réaliser un épuisement total. En particulier, il faut penser que ces solvants ne permettent pas l'extraction des bases quaternaires.

Au contraire, une technique très semblable à celle qui vient d'être décrite à propos des racines et des tiges, quoique moins sélective, donne de meilleurs résultats, comme en témoigne un essai préliminaire pratiqué sur un échantillon réduit de feuilles pulvérisées.

2. Extraction des alcaloïdes bruts :

L'action préalable sur la poudre, de l'éther de pétrole, entraîne une très faible quantité d'alcaloïdes peu polaires, isolés selon la méthode habituelle.

La poudre de feuilles, ainsi débarrassée partiellement de la chlorophylle et de constituants non alcaloïdiques, est lixiviée par une solution méthanolique d'acide acétique qui entraîne la totalité des alcaloïdes. Après évaporation sous vide de l'extrait alcoolo-acétique, reprise par l'eau, filtration et alcalinisation par l'ammoniaque, une partie des alcaloïdes est isolée par agitation avec de l'éther, puis avec du chloroforme.

L'étude des bases tertiaires ainsi obtenues (0,153 % du poids de plante) sera présentée page 67.

Les eaux-mères ammoniacales donnent encore, après acidification, une réaction fortement positive avec les réactifs généraux des alcaloïdes, ce qui indique la présence de bases quaternaires.

L'isolement de ces bases non extractibles par le chloroforme en milieu aqueux ammoniacal, est tenté au moyen de diverses techniques :

— Un essai de précipitation des pierates d'alcaloïdes se solde par la formation d'un magma visqueux qu'il est impossible de purifier.

— L'addition d'une solution concentrée de nitrate de sodium, pratiquée dans l'espoir d'obtenir des nitrates d'alcaloïdes insolubles, provoque l'apparition d'un précipité très léger.

— L'addition enfin, d'une solution d'acide perchlorique, réalise au contraire une précipitation relativement abondante, et l'isolement des perchlorates est effectué selon ce procédé :

Une solution diluée d'acide perchlorique est ajoutée progressivement à la solution aqueuse, après acidification au moyen d'acide acétique.

Le précipité de perchlorates bruts est isolé et lavé modérément au moyen d'eau distillée qui entraîne l'acide perchlorique retenu à son contact, ainsi qu'une faible quantité de perchlorate d'ammonium. Après séchage, ce précipité brun-clair représente 0,180 % du poids de plante (exprimé en bases quaternaires).

3. Etude des bases quaternaires :

a) *Obtention du perchlorate de l'alcaloïde x :*

Le précipité de perchlorate d'alcaloïdes bruts est purifié par dissolution fractionnée dans l'acétone, puis par cristallisation dans le méthanol.

Plusieurs recristallisations successives dans ce solvant permettent d'obtenir un composé incolore, présentant l'aspect de fines aiguilles, et ne donnant qu'une tache en chromatographie sur couche mince. Il s'agit donc du perchlorate d'un *alcaloïde x*.

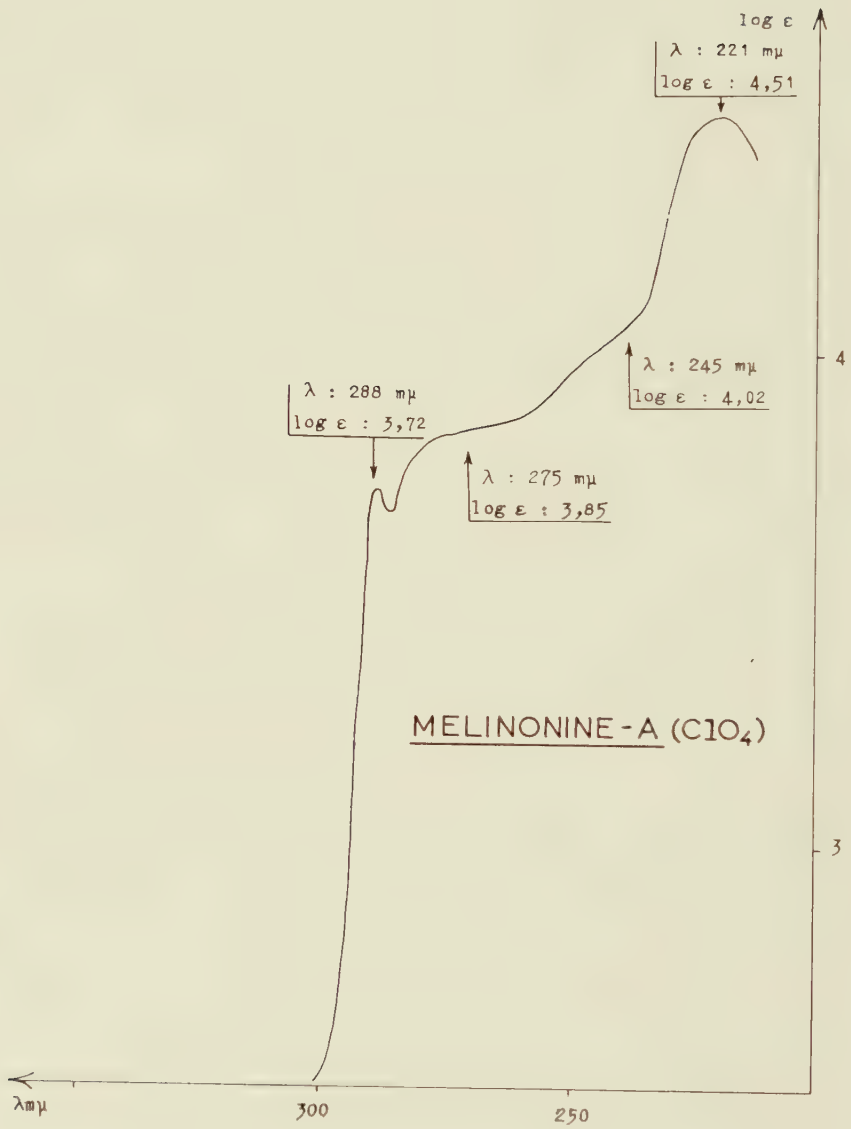


FIGURE 8

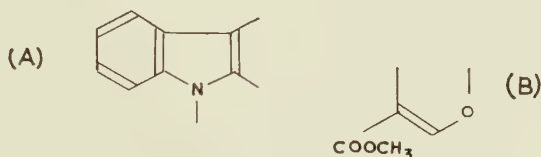
b) Etude du perchlorate de l'alcaloïde x :

— Son point de fusion instantané est de 301° , et son pouvoir rotatoire est de -118° dans l'acétone.

— Son spectre ultra-violet (figure 8) présente deux maximums : respectivement à $221 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon 4,51$) et $288 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon 3,72$), ainsi que deux inflexions aux alentours de 245 et $275 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon 4,02$ et $3,85$).

Un tel spectre suggère fortement la présence dans l'alcaloïde de deux chromophores :

- un chromophore (A) responsable de l'absorption à $221 \text{ m}\mu$ et au voisinage de $280 \text{ m}\mu$;
- un chromophore (B), dû à un groupement carbonylé conjugué à une double liaison, et responsable de l'absorption autour de $245 \text{ m}\mu$ (22)



Ces conclusions sont complétées par l'examen du spectre infra-rouge (figure 9), où l'on remarque :

- un pic à 3450 cm^{-1} (NH indolique) ;
- un ensemble de deux pics intenses à 1620 et 1675 cm^{-1} , que l'on rencontre sur les spectres de tous les alcaloïdes du groupe des hétéroyohimbines, (et en particulier sur le spectre de l'akuammigine (formule IV, tableau n° 16, page 82).

Ces pics sont classiquement attribués (22) à la vibration du groupement ester méthylique conjugué à la double liaison du groupement éther d'énol.

- un pic enfin à 750 cm^{-1} (benzène orthodisubstitué).

Ces observations font supposer que cet *alcaloïde x* fait effectivement partie du groupe des hétéroyohimbines. Aussi la comparaison avec les sels de $N_{(b)}$ -méthyl akuammigine s'impose-t-elle d'emblée.

L'iodométhylate d'akuammigine donne naissance, par addition d'acide perchlorique dilué à sa solution aqueuse, à un perchlorate de $N_{(b)}$ -méthyl akuammigine cristallisé, ou par passage de sa solution méthanolique sur résine échangeuse d'ions en phase Cl^- , à un chlorure également cristallisé.

Le chlorure de l'*alcaloïde x* a également été préparé par passage de la solution méthanolique du perchlorate sur résine échangeuse d'ions, toujours en phase Cl^- .

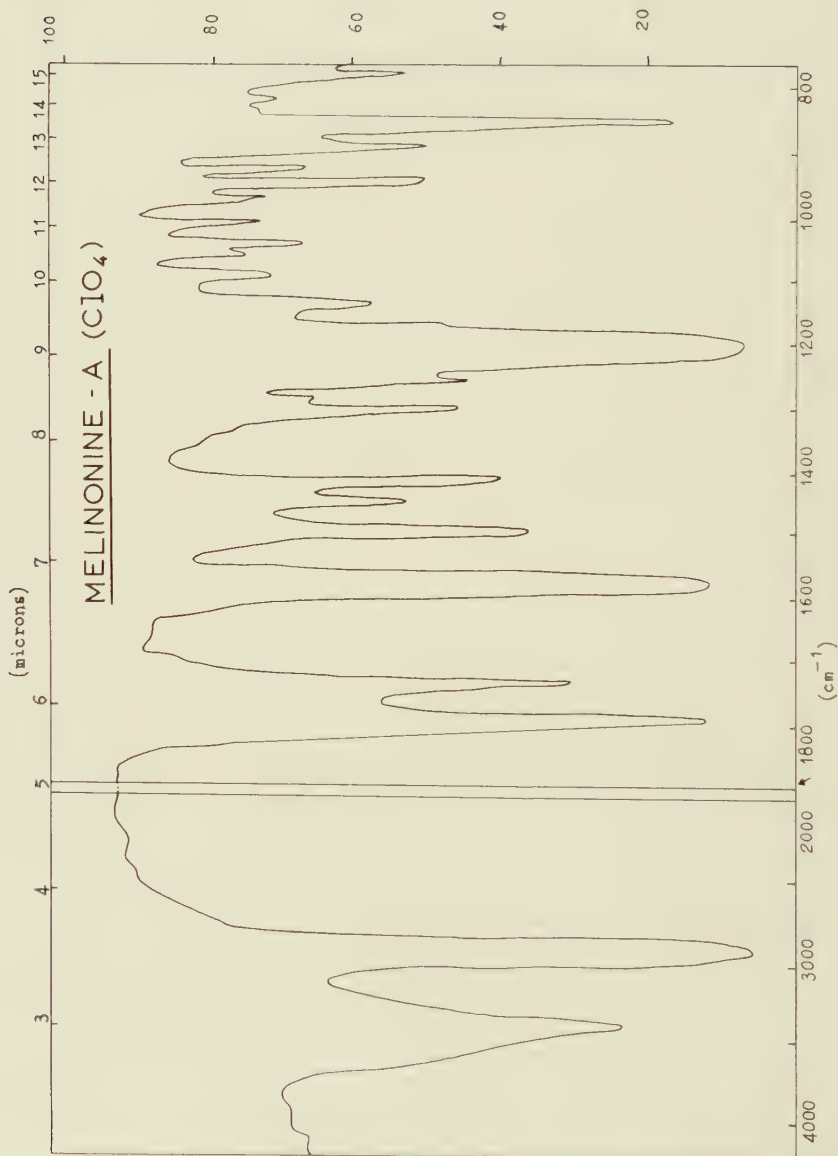


FIGURE 9

Les constantes physiques de ces différents sels rassemblés dans le tableau ci-dessous permettent d'écarter l'hypothèse de leur identité.

TABLEAU N° 12

	Alcaloïde x		N (b) - méthyl - akuammigine		N (b) - méthyl - tétrahydroalstonine	
	C1 -	C10 ₁ -	C1 -	C10 ₁ -	C1 -	C10 ₁ -
F	265° ± 2	301° ± 2	248° ± 3	287° ± 3	266° ± 2	300° ± 2
(α) 20°	— 124°	— 118°	— 37°	— 38°	— 128°	— 118°
D	(méthanol)	(acétone)	(méthanol)	(acétone)	(méthanol)	(acétone)
					— 120° (eau)	

Dans le but de faciliter la comparaison avec les autres alcaloïdes du groupe des hétéroyohimbines, le chlorure de l'alcaloïde quaternaire a été soumis à une pyrolyse sous vide poussé : un composé tertiaire est recueilli par sublimation, et ses constantes physiques se révèlent identiques à celles de la *tétrahydroalstonine* : F 231°, (α)_D : — 102° dans le chloroforme (58).

Les spectres infra-rouges des deux substances sont absolument superposables, et leur comparaison directe (point de fusion du mélange, chromatographie sur couche mince) permet de conclure à leur identité.

La base tertiaire préparée à partir du chlorure de la base quaternaire est donc identique à la *tétrahydroalstonine*.

Il reste à prouver que la pyrolyse n'a occasionné aucune transformation, en particulier en ce qui concerne la configuration de l'alcaloïde. Dans ce but, l'iodométhylate de N_b -méthyl-tétrahydroalstonine a été préparé. La quaternarisation de la *tétrahydroalstonine* est relativement difficile, ainsi qu'en témoigne la constante de vitesse k de formation de l'iodométhylate (57). Cette constante n'est que de 1.03 10⁻⁴ (par opposition à l'*ajmalicine* où k = 24,5 10⁻⁴).

C'est pourquoi l'iodométhylate de tétrahydroalstonine a été préparé par ébullition prolongée à reflux de la base en solution dans un mélange benzène-acétone, en présence d'un excès d'iodure de méthyle. Cet iodométhylate constitue la matière première pour l'obtention du chlorure et du perchlorate. Les constantes physiques de ces derniers sels, reportées sur le tableau n° 12, sont absolument comparables aux valeurs obtenues pour les sels correspondants de l'alcaloïde x du Picralima, et les comparaisons directes permettent de conclure à leur identité.



FIGURE 10

La base quaternaire isolée des feuilles du *Picalima* est donc identique à la $N_{(1)}$ -méthyl tétrahydroalstonine (formule X, tableau n° 16, p. 82).

En 1952, SCHLITTER et HOHL (52) isolaient du *Strychnos melinoniana* Baillon, le sel d'une base quaternaire : la *mélinonine-A* que BACHIL, VAMVACAS, SCHMID et KARRER, en 1957, identifiaient à la $N_{(1)}$ -méthyl tétrahydroalstonine (5).

La présence de ce même alcaloïde dans les deux genres *Picalima* et *Strychnos* ne saurait surprendre, si l'on en rapproche par exemple la parenté de structure entre l'*akuammicine* et la *strychnine*.

4. Etude des bases tertiaires extraites par l'éther et par le chloroforme.

a) Chromatographie sur couche mince :

Une chromatographie en deux dimensions est effectuée sur chacune des fractions obtenues.

— L'étude des alcaloïdes extraits par le chloroforme en milieu alcalin montre qu'il s'agit de composés très polaires, probablement de nature quaternaire, comme le révèle leur solubilité dans l'eau.

— Les chromatogrammes réalisés avec les alcaloïdes extraits par l'éther de pétrole, par l'éther en milieu acide et par l'éther en milieu alcalin étant très comparables entre eux, ces trois fractions sont rassemblées et destinées à une chromatographie sur colonne.

— Le chromatogramme correspondant à ces fractions réunies est reproduit sur la figure 10.

On note après révélation par le réactif de DRAGENDORFF-MACHEBOEUF l'apparition de neuf taches numérotées de 1 à 9 par ordre de polarité décroissante. Certaines de ces taches peuvent être attribuées à des alcaloïdes déjà présents dans les graines, grâce d'une part, à leurs « coordonnées », et d'autre part, à des expériences de surcharge : ainsi, si l'on ajoute au mélange étudié une certaine quantité d'*akuammigine* pure, on n'observe sur le chromatogramme aucune tache supplémentaire, mais l'intensité de la coloration donnée avec le réactif de DRAGENDORFF-MACHEBOEUF s'accroît notablement au niveau de la tache 8.

Outre l'*akuammigine* (tache 8), ce bloc alcaloïdique contient en plus faible quantité l'*akuammine* (tache 5).

L'*akuammidine*, dont la présence dans les feuilles avait été notée par HENRY (17) n'a pu être mise en évidence.

On note encore un composant mineur, tache 9, dont la nature n'a pu être déterminée; une tache importante, n° 7, dont l'origine sera

précisée, et un ensemble de quatre taches peu intenses, correspondant à des alcaloïdes de faible Rf : taches 1, 2, 3, 4.

Le composant majeur, tache 7, apparaît différent de tous les alcaloïdes des graines. La tache à laquelle il donne naissance est flanquée d'une tache (n° 6) importante, mais dont la coloration rougeâtre, avant toute révélation, laisse penser qu'il s'agit d'un produit de dégradation.

b) *Chromatographie sur colonne d'alumine :*

Les alcaloïdes totaux extraits par l'éther de pétrole et l'éther sont dissous dans un mélange à parties égales de benzène et de cyclohexane. Une faible partie, insoluble dans ce mélange, est constituée par des alcaloïdes polaires : taches 1, 2, 3, 4, comme le montre les chromatogrammes sur couche mince du résidu et de la solution.

Une chromatographie minutieuse de cette solution sur colonne d'alumine permet d'isoler effectivement à l'état cristallisé certains des alcaloïdes dont la présence est indiquée par la chromatographie sur couche mince :

— l'*akuammigine* est éluee dans les fractions benzène-éther 90 : 10, et purifiée sous la forme du chlorhydrate cristallisé dans un mélange de méthanol et d'éther.

— l'*akuammine* est isolée des fractions benzène-éther 50 : 50 par cristallisation dans le méthanol.

— les fractions intermédiaires : benzène-éther 80 : 20 contiennent l'alcaloïde responsable de la tache n° 7 sur la chromatographie en couche mince. Plusieurs cristallisations successives dans l'acétone permettent d'obtenir un alcaloïde apparemment nouveau, auquel a été réservé le nom de *picraphylline*.

c) *Etude de la picraphylline :*

La *picraphylline* se présente sous la forme d'une poudre blanche micro-cristalline, fondant à 255° sur la platine chauffante du microscope de KOFLER.

Son pouvoir rotatoire est de -37° en solution chloroformique, pour la radiation de longueur d'onde 579 Å.

Son Rf, pour les solvants A, B, C, D, E, présente les valeurs respectives suivantes : 0,28 — 0,36 — 0,35 — 0,41 — 0,38.

— Son spectre ultra-violet (figure 11), mesuré en solution éthanolique, comporte deux maximums, situés respectivement à 238 mμ (log ϵ 4,14) et 313 mμ (log ϵ 3,98).

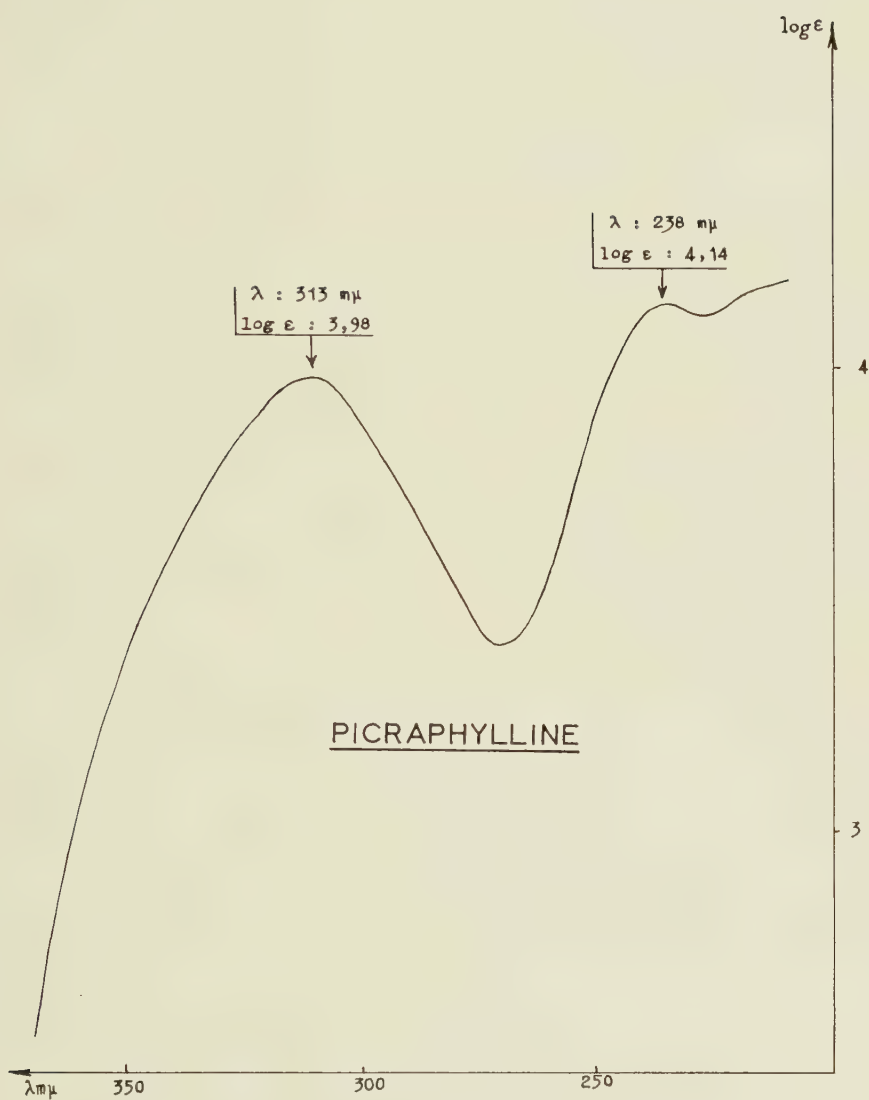


FIGURE 11

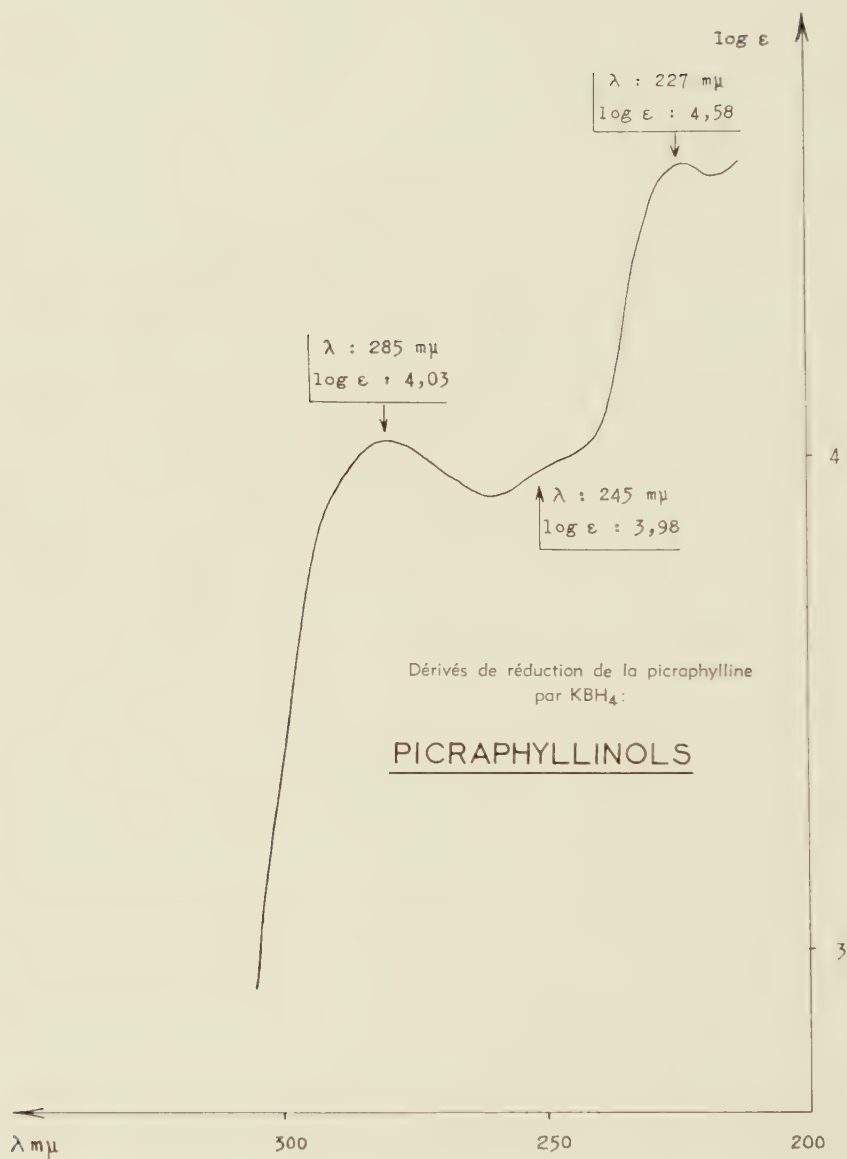
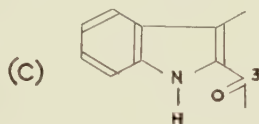


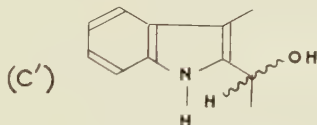
FIGURE 12

La position de ces maximums est identique à celle des maximums d'absorption observée sur les spectres ultra-violet des alcaloïdes possédant le chromophore α -acyl indole (C) :



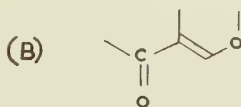
Mais d'autre part, l'intensité relative de l'absorption au niveau des deux maximums est à l'inverse de ce qui est observé pour les alcaloïdes à chromophore α -acyl indole, comme le montre la comparaison avec, par exemple, le spectre ultra-violet de la *vobasine* (49) : λ max. 238 ($\log \epsilon$ 4,20) et 316 ($\log \epsilon$ 4,28). Cette apparente anomalie permet de douter de la présence effective du chromophore (C) dans la molécule de la *picraphylline*.

Afin d'établir la présence éventuelle de ce chromophore, la *picraphylline* a été soumise à l'action du borohydrure de potassium, cette opération ayant pour but de réduire le groupement carbonyle de (C) et de faire apparaître un chromophore purement indolique (C') :



Le spectre ultra-violet (figure 12) du dérivé obtenu présente effectivement les maximums d'absorption à 227 $m\mu$ ($\log \epsilon$ 4,58) et 285 $m\mu$ ($\log \epsilon$ 4,03), caractéristiques de l'enchaînement indolique.

Mais il présente par surcroît une absorption significative aux environs de 345 $m\mu$, qui révèle ainsi la présence du chromophore supplémentaire (B) :



Ces résultats permettent d'affirmer la présence du chromophore α -acyl indole (C) dans la molécule de la *picraphylline*, et d'interpréter l'apparente anomalie constatée au sujet du spectre ultra-violet de cet alcaloïde. L'intensité anormale du maximum à 238 $m\mu$ est due à la sommation dans cette région du spectre des absorptions dues aux deux chromophores (B) et (C).

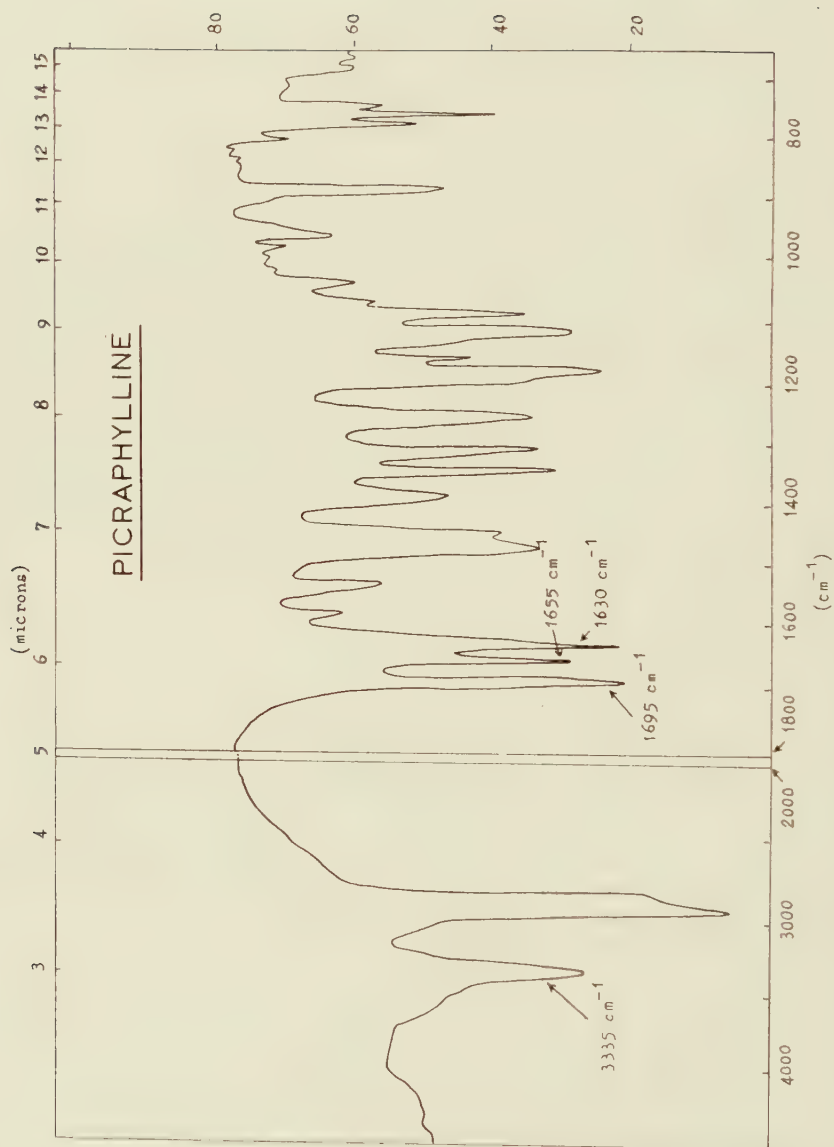


FIGURE 13

-- L'étude du spectre infra-rouge (figure 13) de la picraphylline confirme les conclusions qui viennent d'être établies. On y relève en effet :

- un pic à 3335 cm^{-1} (NH indolique) ;
- un pic à 765 cm^{-1} (benzène ortho-disubstitué) ;
- un ensemble de trois pics dans la région de 1650 cm^{-1} :

Le pic à 1655 cm^{-1} est attribué au groupement carbonyle du chromophore (C).

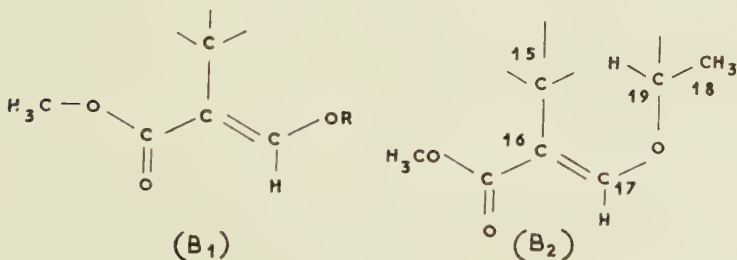
Les pics à 1630 cm^{-1} et 1695 cm^{-1} sont attribués au groupement carbonyle conjugué du chromophore (B).

En effet, de ces trois pics, seuls les deux derniers cités subsistent sur le spectre du dérivé obtenu par réduction de la *picraphylline* au moyen de KBH_4 . L'action du borohydrure de potassium sur la *picraphylline* réalise donc la réduction du groupement carbonyle de (C), sans affecter l'enchaînement (B).

A l'issue de cette opération, les deux alcools secondaires épimères au niveau de C-3 sont obtenus, selon toute vraisemblance, comme en témoigne l'observation de deux taches d'intensité comparable sur le chromatogramme en couche mince, et le spectre ultra-violet significatif de ce mélange.

Il est maintenant nécessaire de préciser la nature de tous les groupements fonctionnels de la molécule, et en particulier de déterminer les relations de l'enchaînement (B) avec les autres éléments de la molécule.

On sait que, parmi les alcaloïdes du type indolique, un tel enchaînement a été rencontré, jusqu'à présent, selon deux modalités :



L'enchaînement (B_1) est réalisé pour la *corynanthéine* (24), la *corynanthéidine* (23) ($\text{R} = \text{CH}_3$) et la *geissoschizine* (43) ($\text{R} = \text{H}$).

L'enchaînement (B_2) est caractéristique des alcaloïdes du groupe des hétéroyohimbines, comme l'*akuammigine* et la *tétrahydroalstonine* (51) (58) (65).

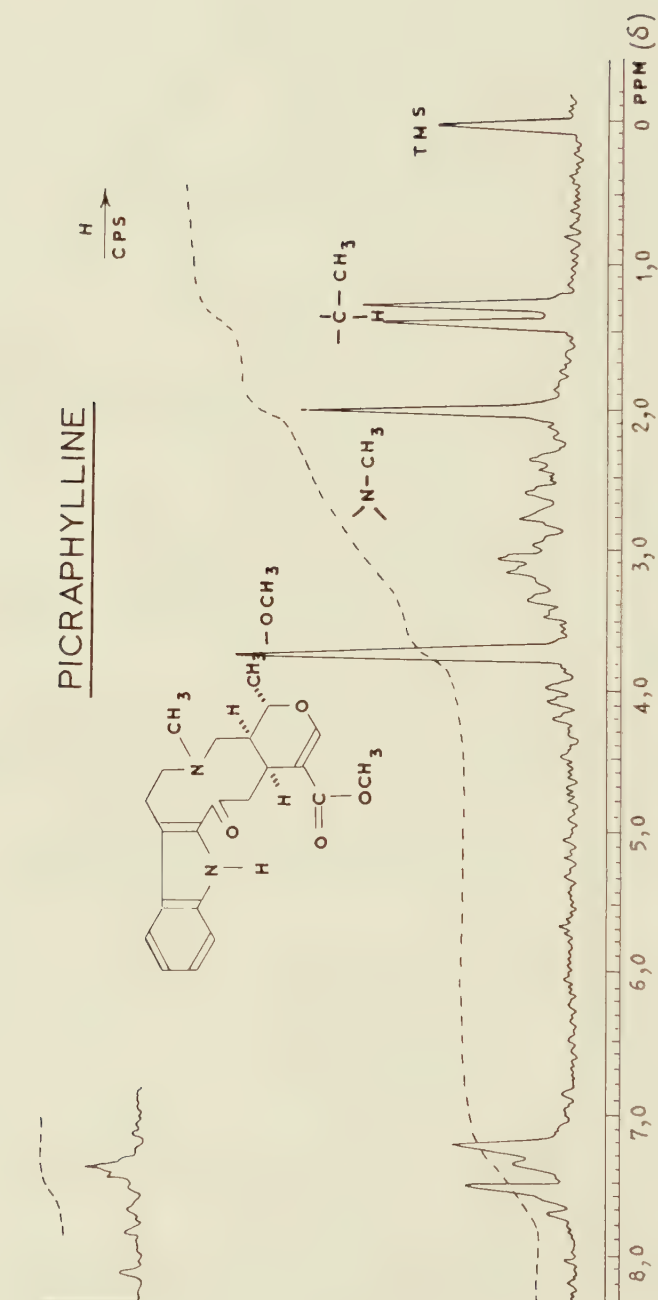


FIGURE 14

— L'étude du spectre de résonance magnétique nucléaire (figure 14) de la *picraphylline* montre la présence de l'enchaînement (B₂) :

- le groupement ester méthylique est responsable d'un singulet (3 protons) situé à 3,72 p.p.m.

- le groupement méthyle porté par C-19 donne naissance à un doublet (3 protons) (J = 7.5 cps) centré sur 1,3 p.p.m., et témoignant du couplage avec le proton unique porté par C-19.

- le déplacement chimique du proton porté par C-17 (dû à la fois à son caractère oléfinique et à l'influence des enchaînements éther-oxyde et ester voisins) est très prononcé : le signal attribuable à ce proton se trouve à 7,55 p.p.m., dans la région des protons aromatiques.

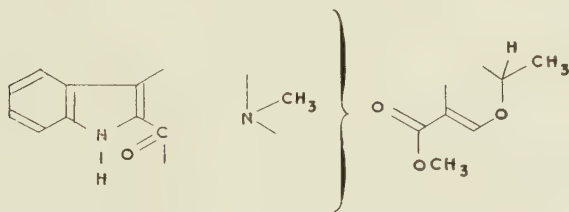
L'intégration de cette région de la courbe indique en effet la présence de cinq protons, et le spectre correspond effectivement à la superposition de la figure typique de l'enchaînement du benzène ortho-disubstitué, et du signal à 7,55 p.p.m.

Sur le spectre de R.M.N. de la *picraphylline*, on observe encore un pic à 9,05 p.p.m., dû au proton porté par l'atome d'azote indolique, et un singulet (3 protons) à 2 p.p.m., attribuable à un groupement N-méthyle.

L'intégration du spectre, calculée sur la base des cinq protons de la région de 7,5 p.p.m., indique pour la molécule un total de 26 protons, indiquant une structure tétracyclique.

Enfin, le poids moléculaire de la *picraphylline*, déterminé par spectrographie de masse, est de 382, ce qui correspond à la formule globale C₂₂H₂₆O₄N₂.

L'ensemble de ces résultats se trouve résumé dans la formule partielle suivante :



Or les structures des quelques alcaloïdes du groupe de l' α -acyl indole s'apparentent à celles d'alcaloïdes indoliques homologues en considérant que la liaison C-3 — N_(b) des seconds n'est pas engagée dans les premiers.

Il en va, par exemple, de la parenté entre la *vobasine* (XVI) (50) et l'*akuammidine* (XVII) (32) (25).

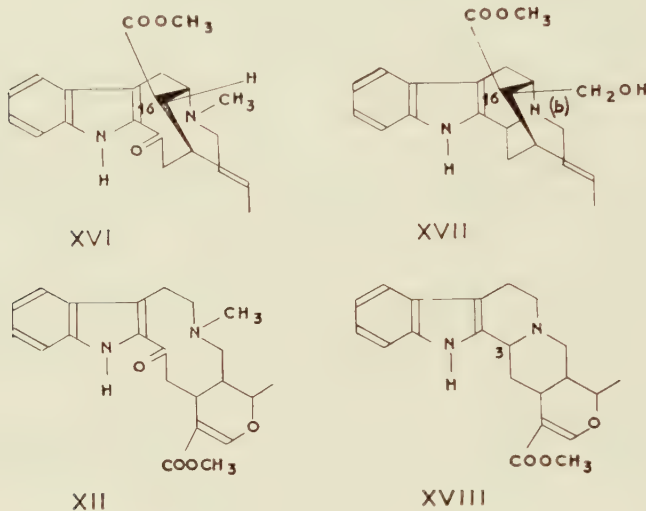


TABLEAU N° 13

Cette observation, confrontée aux résultats auxquels nous sommes parvenus, suggère fortement pour la picraphylline la structure (XII), homologue de la structure (XVIII) des alcaloïdes du groupe de l'hétéroyohimbane.

Il reste cependant à confirmer la présence du squelette « seco-3-4-hétéroyohimbane », et à en préciser la configuration absolue.

C'est dans ce but qu'a été tentée la cyclisation transannulaire $C3 \rightarrow N_{(1)}$, visant à réaliser l'enchaînement pentacyclique des hétéroyohimbines. Bien que les deux picraphyllinols (XIX) (épimères au niveau de C-3) n'aient pas été séparés, leur mélange (sensiblement équimoléculaire) a été salifié au moyen d'acide chlorhydrique. La séparation des deux sels eux-mêmes s'avère difficile; leur mélange est soumis à une pyrolyse sous vide poussé, à 280°. Par sublimation, on obtient ainsi une huile faiblement colorée dont le constituant majeur présente, en chromatographie sur couche mince, le même Rf que la *tétrahydroalstonine*.

Notons qu'en revanche, et relativement à ce même critère chromatographique, il est possible d'affirmer que cette huile ne comporte pratiquement pas d'*akuammigine* (épi-3-tétrahydroalstonine).

Après une chromatographie préparative sur couche mince, suivie de l'élution de la fraction la moins polaire et d'une nouvelle sublimation, un produit amorphe est isolé.

A côté d'une faible trace d'impureté plus polaire, la chromatographie sur couche mince montre la présence d'un constituant largement prédominant, dont le Rf est identique à celui de la *tétrahydroalstonine*.

De plus, l'addition de *tétrahydroalstonine* à un échantillon, ne fait apparaître aucune tache surnuméraire, mais renforce l'intensité de la tache principale.

Le spectre I.R. du produit est pratiquement superposable à celui de la *tétrahydroalstonine*, et son pouvoir rotatoire se situe à -78° dans le chloroforme, alors que celui de la *tétrahydroalstonine* est de -102° dans ce solvant.

Aussi, bien que la très faible quantité de matière première utilisée n'en ait pas permis une purification suffisante et l'obtention sous forme cristallisée, il semble possible d'affirmer que la pyrolyse des sels des picraphyllinols conduit à la formation de *tétrahydroalstonine* (XVIII bis) (tableau n° 14).

Il est intéressant de constater que cette cyclisation conduit exclusivement au dérivé 3 α -H, qui est thermodynamiquement le plus stable (65), et que la pyrolyse des chlorhydrates (XX) des deux picraphyllinols XIX épimères en 3 ne donne aucune trace d'akuamigine 3 β -H.

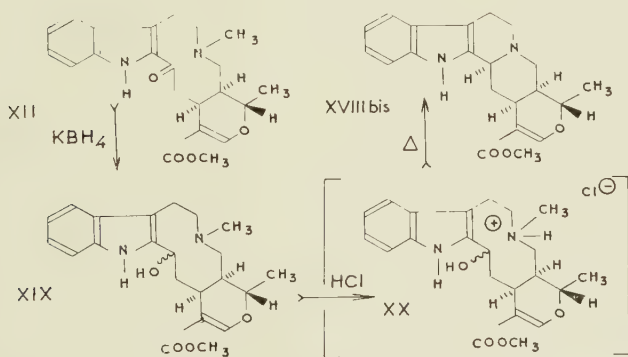


TABLEAU N° 14

On aurait pu penser que chacun des chlorhydrates des deux picraphyllinols épimères existe en fait sous la forme du chlorure d'ammonium quaternaire pentacyclique correspondant, et qu'une épimérisation au niveau de C-3 se produise ultérieurement au cours de la pyrolyse.

Mais les résultats de l'expérience suivante montrent qu'il n'en est rien : la pyrolyse du chlorure de N (b)-méthyl akuammigine conduit exclusivement à l'akuammigine, avec rétention de la configuration de C-3. Le mécanisme de la réaction conduisant, par thermolyse, de XIX à XVIII bis reste donc à éclaircir.

Quoi qu'il en soit, ces résultats confirment l'hypothèse de structure (VII), et montrent que la picraphylline possède la même configuration absolue que la tétrahydroalstonine, à savoir : 15 α -H, 19 β -H, 20 α -H.

La présence simultanée, dans le *Picalima nitida*, de la *picraphylline* (oxo-3, seco 3-4, 15 α -H, 19 β -H, 20 α -H hétéroyohimbine) et de la *mélinonine-A* (X, tableau n° 16) (N₆₁, méthyl, 3 α -H, 15 α -H, 19 β -H, 20 α -H hétéroyohimbine) revêt dès lors une grande importance biogénétique, et vient à l'appui d'une hypothèse récente de W. I. TAYLOR (63). Il est en effet très vraisemblable que la picraphylline représente un précurseur commun de l'akuammigine et de la tétrahydroalstonine, qui en dériveraient par cyclisation 3 $\rightarrow$ 4 *in vivo* (cf tableau n° 17).

CHAPITRE III

NOMENCLATURE DES ALCALOÏDES ISOLES DU *PICRALIMA NITIDA*

Jusqu'à présent, treize alcaloïdes ont été isolés du *Picralima nitida*. L'étude de leur structure a fait l'objet de nombreux travaux.

GRAINES :

— *Akuammicine* (I) : Les travaux parallèles de P. N. EDWARDS et G. F. SMITH (16), de K. BERNAUER, W. ARNOLD, C. WEISSMANN, H. SCHMID et P. KARRER (8), et de J. LÉVY, J. LE MEN et M.-M. JANOT (31), ont permis de confirmer l'hypothèse de structure (1) proposée en 1957 par K. AGORAMURTHY et R. ROBINSON (1).

— ψ -*akuammicine* (II) : P. N. EDWARDS et G. F. SMITH ont montré qu'il s'agit du mélange racémique des (+) et (—) akuammicine (15).

— *Akuammidine* (III) : J. LÉVY, J. LE MEN et M.-M. JANOT ont démontré en 1961 la formule plane de l'akuammidine (32). Ces auteurs, avec J. GOSSET, ont ultérieurement précisé sa configuration absolue (25).

— *Akuammigine* (IV) : En 1955, R. ROBINSON et A. F. THOMAS (51) déterminent sa formule plane. Sa configuration absolue découle des travaux de E. WENKERT et N. V. BRINGI (65), de M. SHAMMA et J. B. MOSS (55) (56) (57).

— ψ -*akuammigine* (V) : En 1961, J. LÉVY, J. LE MEN et M.-M. JANOT (33) proposent la structure (V), et confirment ultérieurement cette hypothèse par une étude au moyen de la spectrophotographie de masse avec C. DJERASSI et ses collaborateurs (36). J. A. JOULE et G. F. SMITH, après une première hypothèse erronée, se rallient aux conclusions des auteurs précédents (9).

— *Akuammine* (VI) : J. A. JOULE et G. F. SMITH ont montré qu'il s'agit d'une oxy- ψ -akuammigine (27), confirmant ainsi une hypothèse de Sir Robert ROBINSON (34).

— *Akuammiline* (VII) : La structure (VII) est proposée par J. LE MEN et ses collaborateurs (37).

— *Picaline* (VIII) : Indépendamment, L. OLIVIER, J. LÉVY, J. LE MEN et M.-M. JANOT d'une part, avec C. DJERASSI et ses collaborateurs (36), et A. Z. BRITTEN et G. F. SMITH (10) d'autre part, ont montré l'identité des squelettes de la picaline et de la ψ -akuammigine. Le groupe de chercheurs britanniques a énoncé pour la picaline la structure (VIII), et l'équipe franco-américaine, par d'autres voies, a formulé des conclusions identiques.

Très récemment, l'équipe française a confirmé par une méthode de dégradation chimique, la structure du squelette commun aux trois alcaloïdes : picaline (VIII), ψ -akuammigine (V) et akuammine (VI) (26).

— *Désacétyl-picaline* (IX) : Isolée par A. Z. BRITTEN et G. F. SMITH, sa structure a été proposée par ces deux auteurs (10), et par M.-M. JANOT, C. DJERASSI, et leurs collaborateurs (36).

Cet alcaloïde a été récemment identifié à la *burnamine*, alcaloïde de l'*Hunteria eburnea* (63).

— *Akuamménine* : Isolée par T. A. HENRY (17), elle n'a jamais été retrouvée, et sa structure est totalement inconnue.

FEUILLES :

— *Mélinonine-A* (X) : N₍₁₎-méthyl tétrahydroalstonine (5).

L'isolement et les étapes de l'identification de cet alcaloïde du *Picalima* sont décrits dans le présent travail (28).

— *Picraphylline* (XII) : (28) (29).

RACINES :

— *Picracine* (XI) : (28).

L'isolement et l'étude de ces deux derniers alcaloïdes constituent l'objet essentiel de cette thèse.

*
**

— Dans le tableau n° 15 sont consignées les formules globales et les constantes physiques de ces divers alcaloïdes.

— Le tableau n° 16 présente la configuration spatiale des alcaloïdes dont la structure est bien définie, ou pour lesquels une hypothèse de structure est proposée.

Nom		formule	F	(α) D ^{20°}	$\lambda_{\text{max.}}$ μ	log ϵ	pK
akuammicine	gr.	$C_{20}H_{21}O_2N_2$	186°	— 735° (méthanol)	227 300 330	4,09 4,07 4,24	7,45
ψ-akuammicine	gr.	id.	id.	0°	id.	id.	
akuammidine	gr.	$C_{21}H_{24}O_3N_2$	255°	+ 24° (méthanol)	227 230	4,38 3,79	
akuammigine	gr. fl.	$C_{21}H_{24}O_3N_2$	113°	— 44° (méthanol)	226 245 275 291	4,54 inf. 4,20 inf. 3,95 3,73	6,58
ψ-akuammigine	gr.	$C_{22}H_{26}O_3N_2$	165°	— 35° (éthanol)	243 290	3,92 3,54	7,25
akuammine	gr. fl.	$C_{22}H_{26}O_4N_2$	315°	— 67° (éthanol)	243 310	4,00 3,56	7,50
akuammiline	gr.	$C_{23}H_{28}O_4N_2$	160°	+ 48° (méthanol)	222 265	4,19 3,71	
picraline	gr.	$C_{28}H_{28}O_5N_2$	165°	— 124° (méthanol)	232 287	3,88 3,41	5,65
désacétyl- picraline	gr.	$C_{21}H_{24}O_4N_2$	197°	— 119° (chlorof.)	232 285	3,77 3,44	5,80
akuamménine	gr.	$C_{20}H_{22}O_4N_2$	225° (picra- te)				
mélinonine-A	fl.	$C_{22}H_{27}O_8N_2 +$	265° (Cl ⁻)	— 124° (méthanol)	221 245 275 288	4,51 inf. 4,02 inf. 3,85 3,72	
picraphylline	fl.	$C_{22}H_{26}O_4N_2$	255°	— 37° (chlorof.)	238 313	4,14 3,98	
picracine	rc.	$C_{21}H_{26}O_3N_2$	145°		227 284	4,34 3,82	
partie de la plante : gr. = graine ; fl. = feuille ; rc. = racine.							

TABLEAU N° 15

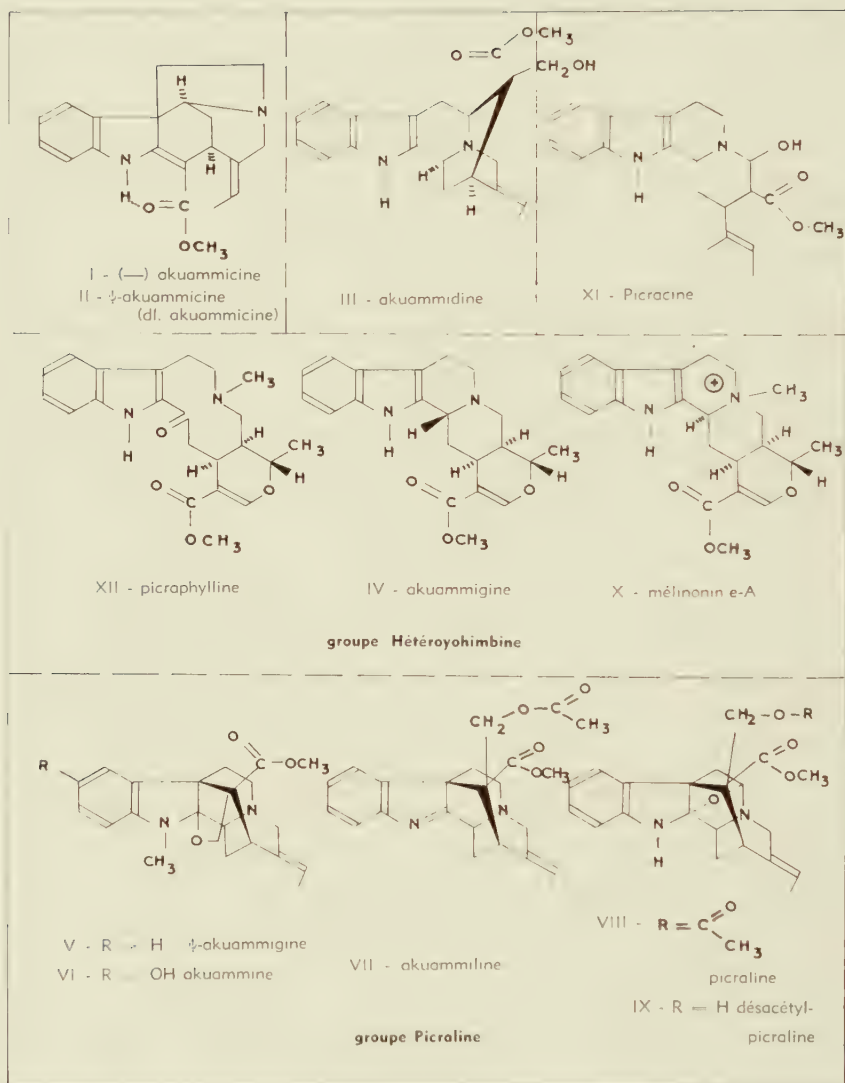


TABLEAU N° 16

CONCLUSION

Ce travail est consacré à l'étude botanique et chimique du *Picralima nitida*, arbre de la forêt africaine, appartenant à la famille des Apocynacées.

Les caractères morphologiques de cette plante ont conduit les botanistes à faire de l'espèce *Picralima nitida*, le seul représentant du genre *Picralima*, qui occupe, dans la sous-tribu des Pleiocarpinées (tribu des Carissées, sous-famille des Plumérioidées) une situation voisine de celle des *Hunteria*.

Seules, les graines du *Picralima* avaient fait jusqu'à présent l'objet d'une étude chimique approfondie. Nous avons néanmoins cherché à appliquer à cette partie de la plante une technique d'extraction améliorée.

Tout au long des diverses chromatographies sur colonne qui ont été pratiquées, nous nous sommes constamment guidés sur les résultats de la chromatographie sur couche mince, mono et bidimensionnelle, et avons mis au point dans ce but des procédés sélectifs d'identification des alcaloïdes déjà connus.

C'est ainsi que huit alcaloïdes ont été isolés, en quantité notable à l'état de pureté, et caractérisés : *akuammicine*, *akuammidine*, ψ -*akuammigine*, *akuammine*, *akuammiline*, *picraline* et *désacétyl-picraline*. Si la ψ -*akuammicine* et l'*akuamménine* n'ont pu être isolées, en revanche deux autres alcaloïdes au moins ont été mis en évidence.

Ces techniques se sont révélées très fructueuses lors de l'étude des racines, des tiges et des feuilles du *Picralima*, qui n'avait pas encore été entreprise auparavant.

L'extraction des racines nous a permis d'isoler un alcaloïde nouveau, la *picracine*, pour lequel l'hypothèse de structure (XI) (tableau n° 16, page 82), basée sur l'étude des propriétés spectrales, s'est imposée. Le squelette de la picraline serait identique à celui des *hunterburnines*, alcaloïdes quaternaires isolés de *Hunteria eburnea*.

Un travail préliminaire montre que la nature des alcaloïdes présents dans les tiges ne semble pas très différente de celle des graines.

L'étude des feuilles, enfin, a procuré des résultats particulièrement intéressants.

Cette partie de la plante contient une fraction importante d'alcaloïdes à groupement ammonium quaternaire, et l'application des techniques utilisant les résines échangeuses d'ions a conduit à isoler un sel cristallisé, identifié à la *mélinonine-A* (chlorure de N⁺-méthyl tétrahydroalstonine).

La résolution du mélange des bases tertiaires provenant des feuilles a permis d'isoler, à côté de l'*akuammimine* et de l'*akuammigine*, un alcaloïde nouveau, la *picraphylline*.

La structure (XII), tableau n° 16, page 82 de la *picraphylline*, déduite d'une étude approfondie des spectres U.V., I.R. et de R.M.N., a pu être confirmée par une corrélation chimique avec la *tétrahydroalstonine*.

Il s'agit en effet d'un alcaloïde possédant à la fois un enchaînement α -acyl indole et l'hétérocycle oxygéné des hétéroyohimbines, et que l'on pourrait dénommer « N₍₁₎-méthyl seco-3,4 oxo-3 tétrahydroalstonine » ou « N₍₁₎-méthyl seco-3,4 oxo-3 akuammigine ».

Ainsi, des trois alcaloïdes nouveaux isolés du *Picalima*, seule la *mélinonine-A* avait déjà été rencontrée dans un autre genre. Les structures des deux autres alcaloïdes, *picraline* et *picraphylline* ont été élucidées.

**

Il est intéressant de noter que la parenté botanique existant entre le *Picalima* et les *Hunteria* s'accompagne d'une parenté chimique certaine.

C'est ainsi que la *burnamine* de l'*Hunteria eburnea* est identique à la *désacétyl-picraline*. Nous avons également souligné l'identité du squelette des *hunterburnines* et de la *picracine*. Il faut encore rapprocher la structure de la *corymine*, de l'*Hunteria corymbosa*, de celle des alcaloïdes du groupe de la *picraline* (*picraline*, ψ -*akuammigine*, *akuammimine*, *akuammiline*) et remarquer la présence d'alcaloïdes à groupement α -acyl indole dans les deux genres (*burnamicine* de l'*Hunteria eburnea* et *picraphylline* du *Picalima nitida*).

La structure de la *picraphylline* et la présence simultanée dans le *Picalima nitida*, de la *tétrahydroalstonine*, de l'*akuammimine*, et des alcaloïdes du groupe de la *picraline*, permettent de déduire une « filiation biogénétique » probable de ces alcaloïdes. Il est possible de penser, en effet, que la *picraphylline*, alcaloïde α -acyl indolique tétracyclique, représente un précurseur commun de la *tétrahydroalstonine* et de l'*akuammimine*, alcaloïdes pentacycliques, qui ne diffèrent l'un de l'autre qu'au niveau du carbone asymétrique supplémentaire (C-3) créé par cette cyclisation.

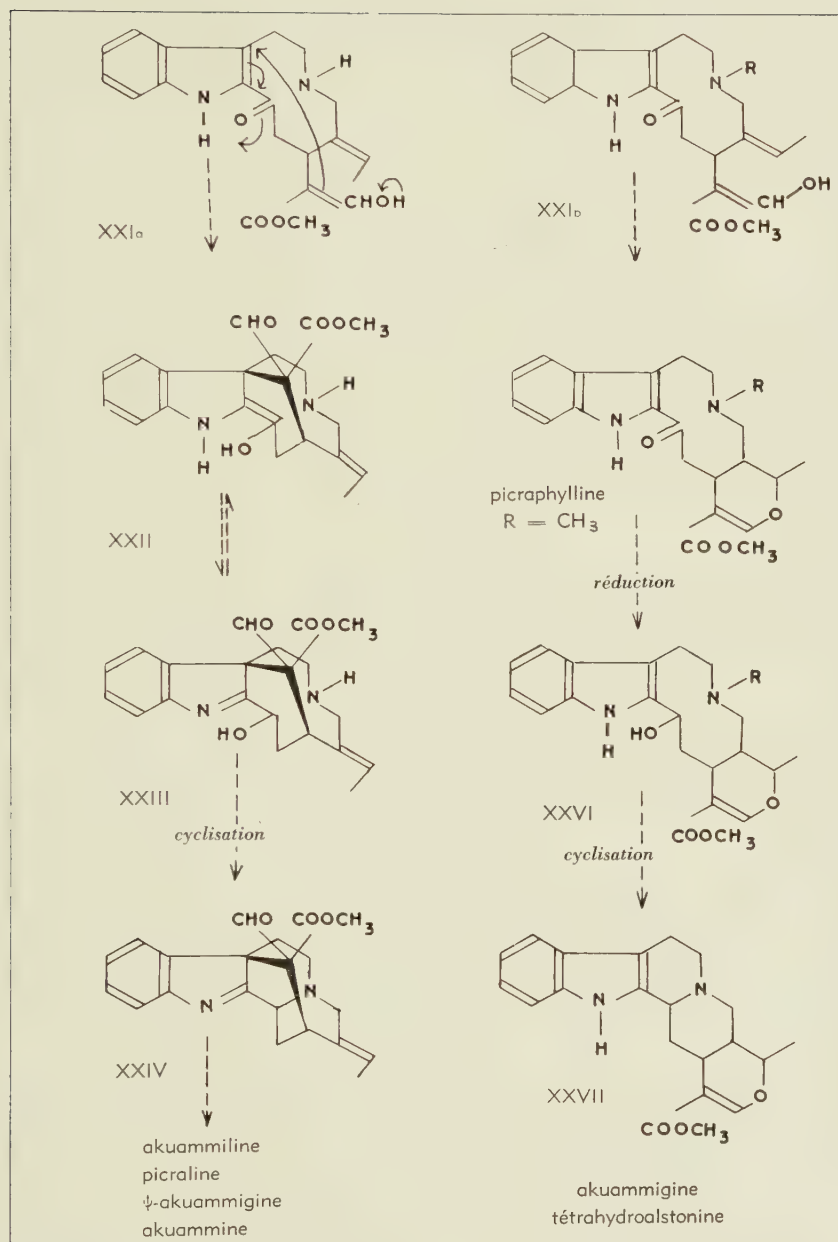


TABLEAU N° 17

D'autre part, un précurseur α -acyl indolique a déjà été suggéré pour rendre compte de la biogénèse de l'échitamine (59) et de la ψ -akuammigine (30).

Ainsi, le composé (XXI) (tableau n° 17, page 85) peut conduire rationnellement d'une part au squelette (XXIV) des alcaloïdes du groupe de la *picraline*, et d'autre part à l'enchaînement (XXVII), caractéristique de l'*akuammigine* et de la *tétrahydroalstonine*.

**

Le présent travail apporte donc, en même temps qu'une contribution à la connaissance de nouveaux alcaloïdes du *Picralima nitida*, des éléments permettant de confronter les classifications phytochimique et botanique des Apocynacées, ainsi que des arguments en faveur de l'origine biogénétique de certains alcaloïdes du groupe de l'indole.

PARTIE EXPERIMENTALE

Les *points de fusion* ont été mesurés sur un microscope à platine chauffante KÖFLER.

Les *spectres ultra-violet*s ont été effectués en solution dans l'éthanol à 96° purifié pour spectrographie, en cuve de 1 cm., à l'aide du spectrophotomètre JOBIN et YVON, type « Maroc »; les longueurs d'onde en m μ des maximums d'absorption sont suivies, entre parenthèses, de la valeur du log ε correspondant.

Les spectres infra-rouges ont été tracés avec un appareil UNICAM SP 200 ou un appareil BAIRD à double faisceau ou un appareil PERKING-ELMER type Infracord, en utilisant une suspension du produit dans l'huile de paraffine, ou une solution dans le chloroforme, ou une inclusion dans une pastille de KBr.

Les *spectres de résonance magnétique nucléaire* ont été mesurés sur un appareil VARIAN A-60, en solution dans le deutéro-chloroforme. Les déplacements chimiques sont exprimés en δ (p.p.m.) par rapport au tétraméthylsilane (T.M.S.) utilisé comme étalon interne de référence (δ T.M.S. = 0).

Les *pouvoirs rotatoires* ont été déterminés en tubes de 2dm., à l'aide d'un polarimètre ZEISS, pour la raie D du sodium.

Les *produits pour analyse* ont été séchés plusieurs heures sous vide poussé, à une température de 100°.

Les *chromatographies sur colonne* ont été réalisées sur alumine d'activité I, standardisée selon BROCKMANN, de marque Merck.

Les *chromatographies sur couche mince* ont été effectuées à l'aide de l'appareil « C. DESAGA », de la façon suivante:

30 gr. de poudre de « kieselgel G » Merck sont triturés au mortier avec un mélange de 57 ml d'eau distillée et 3 ml de lessive de soude: l'étalement se fait sur des plaques de verre de 20 cm. de côté, selon une épaisseur de 0.30 mm. Les plaques ainsi préparées sont alors abandonnées 12 heures à la température du laboratoire, puis portées à l'étuve 2 heures à 100°. Elles sont conservées en armoire étanche, en présence de gel de silice déshydraté.

Le dépôt de la solution alcaloïdique est effectué au moyen de tubes capillaires, sur une ligne distante de 2 cm. d'un des bords de la plaque.

Le développement du chromatogramme est réalisé par voie ascendante, dans des cuves préalablement saturées de vapeurs du solvant, et est interrompu lorsque le front du solvant se situe à 16 cm. du bas de la plaque.

Cinq mélanges de solvants ont été utilisés comme éluants: A. B. C. D. E. Leur composition est la suivante:

Solvant	A	B	C	D	E
Acétate d'éthyle	100	100	—	50	100
Acétone	50	—	50	—	—
Benzène	—	100	—	50	100
Chloroforme	—	15	100	100	—
Méthanol	10	15	10	20	15

Pour éviter les « effets de bords », il est nécessaire d'ôter le « kieselgel » de part et d'autre de la plaque, de façon à réaliser une marge de 0,5 cm.

Les alcaloïdes sont révélés au moyen des réactifs de DRAGENDORFF-MACHEBOEUF, de VALSER-MAYER, et du réactif au sulfate cérique, dont les compositions respectives sont les suivantes :

— Réactif de Dragendorff-Machebœuf :

- Solution A:

Sous-nitrate de Bismuth :	1,70	g
Eau distillée :	80	ml
Acide acétique crist. :	20	ml

- Solution B:

Iodure de potassium :	16	g
Eau distillée :	40	ml

- Solution-mère:

Mélanger les solutions A et B.

- Solution pour révélation des chromatogrammes :

Solution-mère	:	10	ml
Acide acétique	:	20	ml
Eau q.s.p.	:	100	ml

— Réactif de Valsér-Mayer :

Iodure de potassium pur cristallisé	:	25	g
Chlorure mercurique pur	:	6,77	g
Eau distillée	:	q.s.p.	500 ml

Dissoudre le chlorure mercurique et l'iodure de potassium dans 25 ml distillée et compléter au volume.

Ce réactif, de réaction neutre, doit être utilisé en milieu très légèrement acide et ne contenant pas d'alcool.

— Réactif au sulfate cérrique :

Sulfate cérrique ammoniacal:	1,0	g
Acide phosphorique à 85 %:	99,0	g

(Chauffer pour accélérer la dissolution).

Le plan suivi dans la partie théorique est conservé dans la partie expérimentale.

ÉTUDE DES GRAINES

1° DEGRAISSAGE DE LA POUDRE DE GRAINES :

Macération: 9,5 kg de poudre de graines sont répartis dans trois allonges, et imbibés de 6 litres d'éther de pétrole.

Après un contact de 4 heures, une lixiviation est effectuée au moyen de 72 litres d'éther de pétrole utilisés « en cascades ».

Les fractions éthéro-pétroléiques sont épuisées systématiquement par 8 litres d'une solution aqueuse d'acide sulfurique 0,5 N.

Les extractums acides sont agités avec 2 litres d'éther, en ampoules à décantation. L'éther évaporé laisse un résidu grasseyant pesant 3 g.

Les solutions aqueuses acides sont alcalinisées au moyen de 500 ml d'ammoniaque, et épuisées en « cascades » par 5 litres d'éther.

Les solutions éthérées sont lavées par de l'eau distillée jusqu'à neutralité, séchées sur sulfate de sodium anhydre, et évaporées jusqu'à siccité.

5,357 g. d'alcaloïdes sont ainsi obtenus: « *Bases A* ».

D'autre part, les solutions éthéro-pétroléiques sont distillées: il reste un résidu grasseyant pesant 77,450 g. (0,81 %).

2° EPUISEMENT DE LA POUDRE DEGRAISSEE : ALCALOÏDES BRUTS :

La poudre ainsi traitée par l'éther de pétrole est séchée, puis humectée au moyen de 12 litres d'éthanol à 95°.

3° TRAITEMENT DES « BASES B ».

a) Chromatographie sur couche mince :

— monodimensionnelle : éluant B; 7 taches sont mises en évidence par le réactif de DRAGEN-DORFF-MACHEBŒUF :

Rf	Importance de la tache	Coloration au réactif cérrique	Nature de l'alcaloïde
0,15	+++	—	?
0,25	++	—	<i>akuammine</i>
0,35	++	—	{ <i>akuammiline ou désacétyl-picraline</i>
0,35	++	rouge, et un pôle incolore	{ <i>-akuammigine et picraline</i>
0,36	+++	bleu violacé	<i>akuammicine (U. V.)</i>
0,44	++	gris cendré	<i>akuammidine</i>
0,64	+	—	<i>akuammigine</i>

— bidimensionnelle : couple d'éluants : B puis D.
12 taches (voir figure n° 1).

On note:

1,2,3	toutes +++	formant une traînée	Inconnus
4	++		<i>Akuammine</i>
5	+		<i>Akuammiline</i>
6	+		<i>Désacétyl-picraline</i>
7	++		<i>Picraline</i>
8	++	rouge avec Ce +++	<i>-akuammigine</i>
9	+++	gris avec Ce +++	<i>Akuammicine</i>
10	+		Non attribués
11	++	bleu violet	<i>Akuammidine</i>
12	++		<i>Akuammigine</i>

Après un contact de 12 heures, la poudre est lixiviée dans les trois allonges par 40 litres d'éthanol utilisés « en cascades ». Le lixiviat est ensuite distillé, sous vide, sur bain-marie à 50-60°, jusqu'à consistance d'extrait mou.

Le résidu est alors repris à chaud par 10 litres de solution aqueuse d'acide chlorhydrique 0,5 N. La dissolution n'est pas totale, et la suspension ainsi obtenue, après filtration sur kieselguhr, laisse un résidu non alcaloïdique pesant 52 g.

Le filtrat limpide, de couleur brun clair, donne une réaction de VALSER-MAYER fortement positive. Il est additionné progressivement, et sous agitation, de 2,5 litres d'une solution aqueuse saturée de carbonate disodique. Après cette addition, le pH se situe aux environs de 8,5. On observe un abondant dégagement de gaz carbonique, et la formation d'un précipité granuleux.

Ce précipité de bases alcaloïdiques est alors séparé par filtration sur entonnoir de Büchner, lavé par de l'eau distillée jusqu'à neutralité, essoré rapidement, séché sous vide à température inférieure à 37°, en présence de P_2O_5 , et pesé.

350 g. d'alcaloïdes sont ainsi obtenus : « Bases B ».

Les eaux de lavages (2 litres) sont ajoutées au filtrat alcalin, et l'ensemble est épuisé par 5 litres de chloroforme.

La phase chloroformique est lavée jusqu'à neutralité, séchée sur sulfate de sodium anhydre, et distillée.

44,650 g. d'alcaloïdes sont ainsi obtenus : « Bases C ».

La phase aqueuse carbonatée donne encore, après acidification au moyen d'acide acétique (pH 5,5), une réaction fortement positive avec le réactif de VALSER-MAYER.

Cette phase aqueuse est concentrée jusqu'à l'obtention d'un volume de 3 litres, par distillation sous pression réduite, et après refroidissement, elle est additionnée de 150 ml de solution aqueuse saturée d'acide picrique.

Le précipité floconneux, lavé par de l'eau distillée, puis séché à 37°, pèse 19 g., soit 11,40 g. exprimé en alcaloïdes quaternaires.

Résultats pour 9,5 kg de plante :

	Poids	Rendement
<i>Alcaloïdes tertiaires :</i>		
« Bases A »	5,357 g	0,056 %
« Bases B »	350 g	3,470 %
« Bases C »	44,650 g	0,470 %
<i>Alcaloïdes quaternaires</i>	11,400 g	0,120 %
<i>Alcaloïdes totaux</i>	391,407 g	4,116 %

b) Epuisement dans un appareil de Soxhlet :

— Epuisement au moyen d'éther de pétrole :

Les « Bases B », soit 350 g., sont mélangées avec 150 g. de sable, et placées dans l'extracteur d'un appareil de SOXHLET, dans lequel elles sont épuisées par 4 litres d'éther de pétrole pendant 24 heures. La solution éthéro-pétroléique, séparée, est évaporée.

21,981 g. de bases sont ainsi obtenus : « Bases B1 ».

Réunies aux « Bases A », également solubles dans l'éther de pétrole, et donnant le même chromatogramme sur couche mince, elles ne forment plus qu'une seule fraction : « Bases A + B1 » pesant 27,338 g., soit 0,287 % du poids de plante.

— Epuisement au moyen d'éther :

Les « Bases B3 », ainsi traitées par l'éther de pétrole, et restées dans l'extracteur de l'appareil de SOXHLET, sont encore épuisées par 4 litres d'éther. Au cours de cette extraction, il précipite dans le ballon de l'appareil, un produit blanc, donnant une tache unique en chromatographie sur couche mince, de $R_f = 0,20$ avec l'éluant A. Son point de fusion élevé : 315° , et son $[\alpha]_D = 65^\circ$ dans le méthanol, ainsi que ses spectres U. V., ($\lambda_{\text{m}\mu}$: 243, $\log \varepsilon = 4,00$; et 310, $\log \varepsilon = 3,56$), et I. R. (pics à : 1738 cm^{-1} , 3333 cm^{-1} , et 815 cm^{-1}), permettent de l'identifier à l'akuammine.

Après 24 heures d'épuisement par l'éther, le ballon est séparé de l'extracteur et la solution éthérée renferment l'akuammine précipitée est filtrée sur plaque de verre fritté.

5.100 g d'akuammine sont ainsi isolés.

Le filtrat éthéré, placé au réfrigérateur, laisse déposer au cours du refroidissement, un précipité cristallin qui est rapidement identifié à l'akuammidine. Ses caractéristiques sont les suivantes : $F 255^\circ$, $[\alpha]_D + 25^\circ$ dans le méthanol : $R_f = 0,49$ avec l'éluant A ; ses spectres U. V. ($\lambda_{\text{m}\mu}$ 227, $\log \varepsilon$ 4,38 et 280, $\log \varepsilon$ 3,79) et I. R. (pics à 1710 cm^{-1} , 3080 cm^{-1} , et 3209 cm^{-1}), sont superposables à ceux de l'akuammidine.

2.340 g d'akuammidine sont ainsi obtenus.

La solution éthérée, après séparation de l'akuammidine, est évaporée à siccité.

73.955 g d'alcaloïdes sont ainsi obtenus : « Bases B2 ».

La fraction des « Bases B » non extractibles par l'éther de pétrole et par l'éther, est sortie de l'extracteur. Elle est constituée par les « Bases B3 ».

228 g de « Bases B3 » sont ainsi séparés.

(Ils restent mélangés aux 150 g de sable, soit un poids total de 378 g).

4° TRAITEMENT DES FRACTIONS OBTENUES.

a) « Bases A + B1 » :

I. — *Chromatographie sur couche mince : bidimensionnelle*, couple d'éluants : B puis D. On note 4 taches, numérotées de 1 à 4 par ordre de polarité décroissante, dont les coordonnées, et les colorations avec le réactif au sulfate cérrique, permettent d'affirmer la présence de : ψ -akuammigine, coloration rouge avec ce réactif; akuammicine, coloration bleu violet avec ce réactif, et forte fluorescence verte aux rayons ultra-violets : akuammigine, coordonnées correspondant aux *R_f* suivants : 0,65 et 0,60 respectivement avec les solvants B et D.

II. — *Chromatographie sur colonne d'alumine* :

- Poids d'alcaloïdes extractibles par l'éther de pétrole 27.338 g
- Insoluble après ébullition à reflux dans le cyclohexane 3.680 g
- Insoluble après refroidissement et repos à la glacière 1.580 g
- Poids passé sur la colonne 22.078 g
- Poids d'alumine 670 g
- Volume des fractions 600 ml

Eluant	N° des fractions	Poids brut	Solvant	Poids cristallisé	Nature de l'alcaloïde
Cyclohexane	1 à 10	—	—	—	—
Cyclohexane + Benzène 50 %	11 à 31	4.780 g	Acétone	3.500 g	Akuammicine
Benzène	32 à 41	3.350 g	Acétone	1.600 g 1.300 g	Akuammicine ψ -akuammigine
Benzène + Ether 1-5 %	42 à 54	0.645 g	—	—	3 taches : R_p de $\left\{ \begin{array}{l} \psi\text{-akuammigine} \\ \text{akuammicine} \\ \text{akuammigine} \end{array} \right.$
Benzène + Ether 10 %	55 à 62	1.250 g	—	—	akuammigine (chlorhydrate 0.700 g)
Benzène + Ether 20-50 %	63 à 81	2.300 g	—	—	3 taches : R_p de $\left\{ \begin{array}{l} \text{picraline} \\ \text{akuammigine} \\ ? \end{array} \right.$
Ether	82 à 90	0.330 g	—	—	3 taches : idem.
Ether + Méthanol 1-10 %	91 à 125	1.430 g	—	—	3 taches : idem.
Ether + Méthanol 20-50 % et méthanol pur	126 à 142	5.490 g	—	—	Une tache à l'origine. Très polaire.

La séparation de l'*akuammicine* et de la ψ -*akuammigine* de l'ensemble des fractions 32 à 41 est effectuée par cristallisation fractionnée dans l'acétone. De gros cristaux de ψ -*akuammigine* se déposent en premier lieu. Isolés par filtration, puis recristallisés dans l'acétone, ils conduisent à la ψ -*akuammigine* : F 165°, $[\alpha]_D$: —35° dans l'éthanol. R_f : 0,18 dans le solvant E, et 0,40 dans l'éluant C. Les spectres $U. V.$ ($\lambda_{m\mu}$: 243, $\log \varepsilon$ 3,92 et 290, $\log \varepsilon$ 3,54) et $I. R.$ (pics à 1715 cm^{-1} , 1615 cm^{-1} , 756 cm^{-1} , pas de pics dans la région de 3000), sont entièrement superposables à ceux de la ψ -*akuammigine* de référence. Le point de fusion du mélange ne subit aucune dépression.

L'*akuammicine* cristallisant en second lieu, séparée et recristallisée, conduit à des cristaux blancs, mais rosissant rapidement, fluorescents (verts) aux rayons ultra-violets, F 186°, $[\alpha]_D$: —735° dans le méthanol. R_f : 0,27 dans l'éluant A, 0,18 et 0,40 respectivement dans les éluants E et C. Spectre $U. V.$: $\lambda_{m\mu}$ max. à 227 ($\log \varepsilon$ 4,09), 300 ($\log \varepsilon$ 4,07) et 330 ($\log \varepsilon$ 4,24). Spectre $I. R.$: pics à 3400 cm^{-1} et 1648 cm^{-1} .

L'*akuammicine* et la ψ -*akuammigine* ont des R_f très voisins, mais la fluorescence verte de l'*akuammicine*, sa coloration violette avec le réactif au sulfate cérique, permettent de la différencier facilement de la ψ -*akuammigine*, non fluorescente et donnant une coloration rouge avec ce réactif.

L'*akuammigine*, purifiée sous forme de chlorhydrate, conduit à des cristaux possédant exactement les caractères de l'*akuammigine* de référence : F 113°, $[\alpha]_D$: —44° dans l'éthanol, R_f élevé : 0,62 avec l'éluant A et 0,66 avec l'éluant B.

Spectre $U. V.$: $\lambda_{m\mu}$ max. à 226 ($\log \varepsilon$ 4,54) et 291 ($\log \varepsilon$ 3,73), et inflexions à 245 $m\mu$ ($\log \varepsilon$ 4,20) et 275 $m\mu$ ($\log \varepsilon$ 3,95).

b) « Bases B2 » :

I. — *Chromatographie sur couche mince bidimensionnelle* : couples d'éluant : A puis B ; et B plus D.

On note l'apparition de dix taches au moins, par révélation au moyen du réactif de DRAGENDORFF-MACHEBŒUF.

Les coordonnées, et les colorations par le réactif au sulfate cérique, permettent de déduire la présence des principaux alcaloïdes du *Picralima nitida*, reportés sur la figure 1.

II. — Traitement des « Bases B2 » :

Les « Bases B2 », solubles dans l'éther, sont reprises par 2 litres de benzène sur bain-marie à reflux.

Un résidu insoluble amorphe, pesant 5,440 g est séparé.

La solution benzénique renfermant 68.515 g d'alcaloïdes est passée sur une colonne de 2 kg d'alumine, et l'éluion est pratiquée successivement par :

- 20 litres de benzène
- 30 litres d'éther
- 16 litres du mélange éther-méthanol 95:5
- 20 litres de méthanol.

Les fractions éluées par un même solvant sont concentrées et rassemblées.

— Les fractions benzéniques laissent, après évaporation de l'éluant, un résidu pesant 12,906 g et qui constitue les « *Bases B2*_(a) ».

— Au cours de la concentration progressive des premières fractions étherées, l'*akuammine* précipite, tandis qu'il cristallise, lors de la concentration des dernières fractions, de fines aiguilles qui sont purifiées dans l'éther : *F* 165°, [α] D : —124° dans le méthanol, *Rf* : 0,16 dans l'éluant E, et 0,34 dans l'éluant D.

Spectre U.V. : $\lambda_{m\mu}$ max. 232 (log ε 3,88) et 287 (log ε 3,41) ;

Spectres I.R. : 3390 cm⁻¹, et bandes à 1725 cm⁻¹ et 1695 cm⁻¹.

Ces caractères sont comparables à ceux de la *picraline*.

5,460 g d'*akuammine* et 2,300 de *picraline* sont ainsi isolés. Le résidu d'éluion étherée non cristallisable pèse 16,400 g et constitue les « *Bases B2*_(b) ».

— Le résidu de distillation de l'éluant par le mélange éther-méthanol 95 : 5 pèse 6 g et constitue les « *Bases B2*_(c) ».

— Le méthanol enfin est distillé : 11,480 g de « *Bases B2*_(d) ».

Chromatographie sur colonne d'alumine de chacune des fractions :

« *B2*_(a) », « *B2*_(b) », « *B2*_(c) », « *B2*_(d) ».

« *Bases B2*_(a) ».

Poids d'alcaloïdes extractibles par le benzène	12,906 g
Insoluble dans le cyclo-hexane-benzène 50:50	0,806 g
Poids passé sur la colonne	12,100 g
Poids d'alumine	370 g
Volume des fractions	325 ml

Eluant	Numéro des fractions	Poids brut	Solvant	Poids cristallisé	Nature
Cyclohexane + Benzène 50 %	1 à 8	0,040	—	—	Non alcaloïdique
Benzène	9 à 45	4,491	Acétone	2,030 -- 1,530 --	akuammicine ψ akuammigine
Benzène + Ether 1-10 %	46 à 63	1,196	Benzène + Ether 50 %		akuammidine
Benzène + Ether 20.50 %	64 à 73	0,294	—	- R _F de	2 taches : akuammine picraline
Ether et Ether-Méthanol 1 à 50 %	83 à 112	2,275	—		Idem.
Méthanol	113 à 125	0,700	—	—	Une tache à l'origine

« Bases B2_(b) »

Poids d'alcaloïdes extractibles par l'éther	16,400 g
Insoluble dans le benzène sur bain-marie à reflux ..	0,200 g
Poids passé sur colonne	16,200 g
Poids d'alumine	500 g
Volume des fractions	450 ml

Eluant	Numéro des fractions	Poids brut	Solvant	Poids cristallisé	Nature de l'alcaloïde
Benzène	1 à 8	—	—	—	—
Benzène + Ether 1-5 %	9 à 21	—	—	—	—
Benzène	22 à 26	1,100 g	—	—	akuammigine (chlorhydrate 0,750 g)
Benzène + Ether 10 %	27 à 39	2,400 g	—	—	akuammiline (chlorhydrate 0,300 g)
Benzène + Ether 20-50 %	40 à 80	4,210 g	Ether	1,500 g	picraline
Ether	81 à 90	2,300 g	Ether	1,400 g	picraline
Ether + Méthanol 1-50 %	91 à 135	1,270 g	—	—	Une tache à l'origine
Méthanol	136 à 142	0,400 g	—	—	Idem.

L'obtention de l'*akuammiline* a été réalisée de la façon suivante :

Les fractions 27 à 39, éluées au moyen du mélange benzène-éther 10 % ont été à nouveau chromatographiées sur colonne d'alumine.

Les fractions étherées ont permis d'obtenir 0.520 g de bases amorphes. Une chromatographie sur couche mince montre, après révélation au moyen du réactif de DRAGENDORFF-MACHEBŒUF, deux taches dont les R_f respectifs ont les valeurs suivantes : 0.65 dans l'éluant B. et 0.32 dans le même éluant. La base à R_f élevé est minoritaire : il s'agit probablement d'*akuammigine* qui n'a pu être isolée.

L'alcaloïde le plus polaire, formant une tache intense, est isolé sous la forme de son chlorhydrate :

L'ensemble alcaloïdique, soit 0,520 g, est dissout dans le minimum de méthanol, soit 3 ml. Une goutte d'acide chlorhydrique pur est ajoutée à cette solution, puis très progressivement on ajoute de l'éther jusqu'à l'obtention d'un louche persistant : le frottement sur les parois du tube au moyen d'un agitateur de verre, permet d'obtenir la cristallisation d'un chlorhydrate d'alcaloïde.

Une chromatographie sur couche mince révèle, par la tache unique qu'il donne, la pureté du chlorhydrate obtenu. Ce dernier est alors transformé en base amorphe par la technique habituelle : par concentration progressive de sa solution étherée, en présence d'hexane, cette base cristallise difficilement sous forme de lamelles *fondant* à 160°; $[\alpha]_D + 48^\circ$ dans le méthanol.

Spectre U. V. : pics à 222 m μ (log ϵ 4,19) et 265 m μ (log ϵ 3,71).

Spectre I. R. : bandes à 3400 cm $^{-1}$, 1740 cm $^{-1}$, 1640 cm $^{-1}$ et 780 cm $^{-1}$.

Par mélange de la base obtenue avec de l'*akuammiline* de référence, on obtient un ensemble alcaloïdique ne donnant qu'une seule tache en chromatographie sur couche mince, et dont le *point de fusion* reste fixé à 160°. Il s'agit bien d'*akuammiline*, dont le R_f , pour les divers éluants, prend les valeurs suivantes : A : 0.22 — B : 0.32 — C : 0.41 — D : 0.37 — E : 0.25.

« Bases B2_(c) » et « Bases B2_(d) » :

Ces deux fractions chromatographiées sur colonne d'alumine, n'ont pas permis d'obtenir d'alcaloïde pur, soit amorphe, soit cristallisé.

c) « Bases C » :

44,650 g de « Bases C » sont reprises par 1 litre d'éther, sur bain-marie à reflux. Après filtration, la solution étherée est amenée à siccité. Le résidu, soit 11,300 g de bases solubilisées par l'éther, est repris par 150 ml de chloroforme, sur bain-marie, et à reflux.

Après filtration à chaud de la solution chloroformique, refroidissement, repos de 12 heures, et une nouvelle filtration, il reste sur les deux filtres un insoluble de 2,300 g.

Le filtrat limpide, renfermant 9 g d'alcaloïdes, est mélangé à 70 g d'alumine; le solvant est chassé doucement sur bain-marie, en triturant sans cesse.

On obtient ainsi 70 g d'alumine sur laquelle sont adsorbés 9 g d'alcaloïdes. Cette alumine est ajoutée à la partie supérieure d'une colonne contenant déjà 200 g d'alumine ordinaire, et montée dans le benzène.

Poids d'alcaloïdes chromatographié	9 g
Poids d'alumine	270 g
Volume des fractions	230 ml

Eluant	N° des fractions	Poids brut	Solvant	Foids cristallisé	Nature l'alcaloïde
Benzène	1 à 17	—	—	—	—
Benzène-éther 1:20 %	18 à 50	—	—	—	—
Benzène-éther 50 %	51 à 70	1,110 g	—	R _p de —	3 taches : akuammidine picraline désacétyl-picraline
Ether	71 à 80	—	—	—	—
Ether-méthanol 1:50 %	81 à 120	—	—	—	—
Méthanol	121 à 130	3 470 g	—	—	Très polaire Une tache à l'origine

La fraction alcaloïdique éluee par le mélange benzène-éther 50:50 est résolue en ses constituants par une nouvelle chromatographie sur colonne.

— Les premières fractions éluees par le mélange benzène-éther 10 %, permettent d'isoler une base cristallisant dans l'éther. Ses constantes physiques et ses spectres U.V. et I.R. permettent de l'identifier à l'*akuammidine*.

0,600 g d'*akuammidine* sont ainsi obtenus.

— Les premières fractions étherées laissent après évaporation lente de l'éther, des aiguilles microcristallines, dont les constantes physiques et les spectres U.V. et I.R. sont comparables à ceux de la *picraline*.

0,250 g de *picraline* sont ainsi isolés.

— Mais les eaux-mères de cristallisation de la *picraline*, chromatographiées sur couche mince, donnant deux taches dont les *R_f* sont assez voisins quel que soit l'éluant.

Pour la tache la moins polaire, on retrouve les valeurs de *R_f* de la *picraline* : 0,31; 0,35; 0,39; 0,34; 0,16; respectivement pour les éluants : A, B, C, D, E.

La seconde tache présente des valeurs de *R_f* légèrement inférieures à celles de la *picraline* : 0,29; 0,32; 0,36; 0,32; 0,15; pour les mêmes éluants. Mais aucun autre alcaloïde cristallisé n'a pu être isolé de ces eaux-mères.

— Les dernières fractions éthérées laissent après évaporation lente de l'éther, des aiguilles micro-cristallines, qui donnent une seule tache en chromatographie sur couche mince, et dont le *R_f* présente des valeurs égales à celles de la seconde tache accompagnant la *picraline*.

Ces cristaux fondent à 197° ; (α)_D : — 119° dans le chloroforme. Le spectre U.V. est très voisin de celui de la *picraline* : on note deux maximums à 232 m μ (log ϵ 3,77) et à 285 m μ (log ϵ 3,44).

Le spectre I. R. présente le même aspect que celui de la *picraline*, sauf en ce qui concerne la bande à 1260 cm⁻¹ qui a disparu.

Tous ces caractères permettent d'identifier cet alcaloïde à la *désacétyl-picraline*.

0,150 g de *désacétyl-picraline* ont ainsi été isolés.

ETUDE DES RACINES

1° METHODE D'EXTRACTION.

a) Epuisement par l'éther de pétrole :

930 g de poudre d'écorce de racine sont lixiviés par 10 litres d'éther de pétrole; le lixiviat, concentré jusqu'à l'obtention d'un volume de 2 litres, est agité dans une ampoule à décantation avec 750 ml de solution aqueuse acétique à 1,5 % utilisés en trois fractions décroissantes.

L'extractum acide, après alcalinisation au moyen de 30 ml d'ammoniaque est épuisé par trois fois 150 ml d'éther. La solution étherée est lavée par de l'eau distillée jusqu'à neutralité, séchée sur sulfate de sodium anhydre et amenée à siccité.

Un résidu pesant 16 mg est obtenu; mais il ne donne, en milieu acide, qu'une réaction douteuse avec le réactif de VALSER-MAYER.

D'autre part, la solution éthéro-pétroléique évaporée laisse un résidu résineux pesant 12,500 g, soit 1,34 % du poids de poudre.

b) Epuisement par l'éthanol à 95° :

La poudre ainsi traitée par l'éther de pétrole est séchée, puis mise à macérer dans 1,5 litre d'une solution éthanolique d'acide acétique à 1,5 %.

Après un contact de 4 heures, la poudre est lixiviée par 10 litres de solution éthanolique d'acide acétique à 1,5 %.

Le lixiviat est distillé sur bain-marie et sous pression réduite, jusqu'à consistance d'extrait mou; le résidu est alors repris par deux litres d'eau distillée chaude, et la solution aqueuse obtenue est placée au réfrigérateur.

Après un repos de 24 heures, le liquide surnageant est filtré, placé dans une ampoule à décantation, et alcalinisé au moyen de 300 ml d'ammoniaque. Il se forme un abondant précipité gommeux obstruant l'allonge de l'ampoule, et rendant impossible l'épuisement de la solution aqueuse par agitation avec du chloroforme.

Ce précipité caoutchouteux, susceptible d'englober une partie des alcaloïdes, est sorti de l'ampoule, séparé ainsi de la solution aqueuse.

Ces deux phases sont traitées séparément :

— D'une part, le précipité gommeux est solubilisé dans 1,5 litre de chloroforme, sur bain-marie à reflux. La solution chloroformique est agitée dans une ampoule à décantation avec trois fois 250 ml d'acide sulfurique 0,5 N. La phase acide, alcalinisée au moyen de 60 ml d'ammoniaque, est extraite par trois fois 100 ml d'éther.

- La solution étherée est lavée, séchée et distillée.

Le résidu alcaloïdique obtenu pèse 0,150 g.

- Les eaux-mères alcalines sont conservées.

— D'autre part, la solution aqueuse ammoniacale, séparée du précipité gommeux, est épuisée au moyen de 800 ml d'éther utilisés en trois fois.

- La solution étherée est lavée, séchée et distillée.

Le résidu alcaloïdique obtenu pèse 0,500 g.

- La phase aqueuse ammoniacale, ainsi extraite par l'éther, est jointe aux eaux-mères alcalines d'extraction du précipité caoutchouteux; l'ensemble est épuisé par trois fois 250 ml de chloroforme.

La solution chloroformique, lavée, séchée et distillée, laisse un résidu alcaloïdique pesant 0,600 g.

Les eaux-mères alcalines, après acidification, donnent encore une réaction positive avec le réactif de VALSER-MAYER.

Des essais de précipitation des *bases quaternaires* par les réactifs usuels ne donnent aucun résultat.

Les deux fractions alcaloïdiques extraites par l'éther, conduisant au même chromatogramme, sont rassemblées, soit un poids total de 0,700 g.

Résultats : pour 930 g de plante :

Solvant d'extraction	Poids	Rendement
Ether	0,700 g	0,075 %
Chloroforme	0 600 g	0,064 %
Bases tertiaires totales	1.300 g	0,139 %
Bases quaternaires : isolement impossible		

2^e TRAITEMENT DES ALCALOÏDES OBTENUS.

a) Chromatographie sur couche mince, bidimensionnelle :

— Les bases extraites par le chloroforme ne migrent pas, et forment une tache allongée à partir du point d'origine. Ces bases très polaires ne sont pas étudiées.

— Les bases extraites par l'éther donnent 9 taches, avec le couple d'éluants B puis D (voir figure 3).

taches n ^o 1, 2, 3	+	non attribuées
4	++	coordonnées de la <i>désacétyl-picraline</i> .
5	++	coordonnées de la <i>picraline</i>
6	+++	sera attribuée à la <i>picracine</i>
7	++	non attribuée
8	++	coordonnées de l' <i>akuammigine</i>
9	+	non attribuée

b) Chromatographie sur colonne d'alumine des bases extraites par l'éther :

0,700 g de bases sont solubilisés, sur bain-marie, dans 20 ml de chloroforme, et la solution chloroformique est mélangée à 6 g d'alumine dans une petite capsule. Le chloroforme est évaporé sur bain-marie, en remuant sans cesse avec un agitateur de verre.

L'alumine ainsi chargée d'alcaloïdes est placée à la partie supérieure d'une colonne de 16 g d'alumine ordinaire, et montée dans le mélange cyclohexane-benzène 50 %.

Eluant	N° des fractions	Poids brut	Solvant	Poids cristallisé	Nature l'alcaloïde
Cyclohexane + Benzène 50 %	1 à 10	—	—	—	—
Benzène	11 à 18	0,140 g	acétone	0,067	Picracine
Benzène + Ether 1-50 %	19 à 65	0,210 g	—	—	Taches : 8, 7
Ether	66 à 85	0,110 g	—	—	Taches : 4, 5
Ether-méthanol 1 à 50 %	86 à 110	0,167 g	—	—	Taches : 1, 2, 3
Méthanol	111 à 115	0,020 g	—	—	Taches : 1, 2, 3

c) Etude de la picracine :

Petites lamelles incolores, mais rougissant rapidement à l'air.

R_F : 0,32 pour l'éluant B et 0,46 pour l'éluant D. Tache n° 6.

F : 145°.

Spectre U.V. :

Max. λ_{mp} 227, $\log \varepsilon$ 4,34 et 284, $\log \varepsilon$ 3,82

Max. λ_{mp} 224 et 274 en milieu HCl dilué, ou concentré (5M)

Spectre I.R. :

Bandes à 3050 cm^{-1} (H mobile associé). 1728 cm^{-1} (groupement carbonyle). 1620 cm^{-1} (insaturation) et 780 cm^{-1} (benzène ortho-disubstitué).

Spectre de R.M.N. :

Pics à $\delta = 7,8$ p.p.m.; 5,2 p.p.m.; 3,95 p.p.m.; 3,6 p.p.m.; et 1,2 à 1,6 p.p.m.

Spectre de masse :

Pic à $m/e = 337$ pour le pic de masse la plus élevée.

ÉTUDE DES TIGES

1° EXTRACTION DES ALCALOÏDES.

A. — Ecorce.

a) *Epuisement par l'éther de pétrole*

500 g d'écorce de tige sont lixiviés par 5 litres d'éther de pétrole; après concentration jusqu'à volume de 1 litre, le lixiviat est extrait par 250 ml de solution aqueuse acétique à 1,5 %. L'extractum acide est alcalinisé au moyen de 10 ml d'ammoniaque, puis est épuisé par 100 ml d'éther.

La solution éthérée est lavée, séchée et amenée à siccité.

64 mg d'alcaloïdes sont ainsi obtenus.

D'autre part, la solution éthéro-pétroléique évaporée laisse un résidu résineux pesant 21,400 g.

b) *Epuisement par l'éthanol à 95°*

La poudre d'écorce de tige, épuisée par l'éther de pétrole, est séchée, puis lixiviée par 5 litres d'une solution éthanolique d'acide acétique à 1,5 %.

Le lixiviat est concentré sur bain-marie, et sous pression réduite jusqu'à consistance d'extract mou. Le résidu est ensuite repris par 750 ml d'eau distillée chaude, et la solution obtenue est placée au réfrigérateur. Après un repos de 24 heures, le liquide surnageant est filtré, placé dans une ampoule à décantation, alcalinisé au moyen de 150 ml d'ammoniaque, et épuisé par 250 ml de chloroforme.

La solution chloroformique est lavée, séchée et amenée à siccité.
6,600 g d'alcaloïdes sont ainsi obtenus.

Ces bases solubles dans le chloroforme sont reprises par 250 ml d'éther sur bain-marie à reflux. La solution étherée est filtrée, puis évaporée.

0,070 g de bases solubles dans l'éther sont isolés.

B. — Bois.

500 g de bois de tige sont traités de la même manière.

a) *Epuisement par l'éther de pétrole*

0,057 g d'alcaloïdes sont obtenus.

D'autre part, la solution éthéro-pétroléique évaporée laisse un résidu non alcaloïdique pesant : 18,530 g.

b) *Epuisement par l'éthanol à 95°*

5,670 g d'alcaloïdes sont extraits par le chloroforme, dont 670 mg seulement sont solubles dans l'éther.

Résultats :

Solvant	Ecorce (500 g)		Bois (500 g)	
	Poids	Rendement	Poids	Rendement
Ether de pétrole	0,064 g	0,012 %	0,057 g	0,011 %
Ether	0,070 g	0,014 %	0,670 g	0,134 %
Chloroforme	6,530 g	1,300 %	3,000 g	0,600 %
Total	6,664 g	1,326 %	3,727 g	0,745 %

2° CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE DE CES DIFFÉRENTES FRACTIONS.

A. — Ecorce.

— Bases extraites par l'éther de pétrole : 5 taches (figure 7a).

tache n° 3 : coordonnées de l'*akuamine*; éluant B : 0,25 et D : 0,23.

tache n° 4 : coordonnées de l'*akuammigine* : B : 0,65 et D : 0,60.

— *Bases extraites par l'éthanol et solubles dans l'éther* : 4 taches (figure 7b).

tache n° 3 : coordonnées de l'*akuammine* : Rf : 0,25 et 0,23 dans B et D.

B. — **Bois.**

— *Bases extraites par l'éther de pétrole* : 5 taches (figure 7c).

tache n° 3 : coordonnées de l'*akuammine*.

tache n° 4 : coordonnées de l'*akuammidine*; Rf : 0,45 et 0,32 avec B et D.

tache n° 5 : coordonnées de l'*akuammigine*.

— *Bases extraites par l'éthanol et solubles dans l'éther* : 3 taches (figure 7d).

tache n° 2 : non attribuée.

tache n° 3 : coordonnées de l'*akuammigine*.

ÉTUDE DES FEUILLES

1° ESSAIS PRELIMINAIRES.

a) Epuisement par le chloroforme :

100 g de poudre de feuilles sont humectées au moyen de 60 ml de solution aqueuse ammoniacale au demi. Après un contact de 4 heures, la poudre est lixiviée lentement par 1 litre de chloroforme.

Le solvant est éliminé, et le résidu est repris sur bain-marie par 250 ml de solution aqueuse acétique à 1,5 %.

Après un repos de 24 heures à la glacière, le liquide surnageant est filtré, placé dans une ampoule à décantation, alcalinisé au moyen de 10 ml d'ammoniaque, et extrait par quatre fois 150 ml de chloroforme.

La solution chloroformique est lavée par de l'eau distillée jusqu'à neutralité, séchée sur sulfate de sodium anhydre, et amenée à siccité.

Le résidu alcaloïdique pèse 90 mg. et représente 0,09 % du poids de la plante.

b) Epuisement par le chlorure de méthylène :

L'épuisement de 100 g de poudre de feuilles préalablement humectée au moyen de 60 ml de solution aqueuse ammoniacale au demi, est effectué par 750 ml de chlorure de méthylène, dans un appareil de SOXHLET.

La suite des opérations est identique à celle indiquée dans la méthode précédente.

95 mg d'alcaloïdes sont ainsi obtenus, soit 0,095 % du poids de la plante.

c) Traitement par l'éther de pétrole, suivi d'épuisement par une solution méthanolique d'acide acétique :

100 g de poudre de feuilles sont lixiviés par 1 litre d'éther de pétrole; le lixiviat, concentré jusqu'à l'obtention d'un volume de 500 ml, est agité dans une ampoule à décantation avec 250 ml de solution aqueuse acétique à 1,5 %, utilisés en trois fractions décroissantes.

L'extractum acide, après alcalinisation au moyen de 10 ml d'ammoniaque, est extrait par trois fois 80 ml d'éther.

La solution étherée est lavée par de l'eau jusqu'à neutralité, séchée sur sulfate de sodium anhydre, et distillée jusqu'à siccité.

Le résidu obtenu pèse 3 mg, soit 0,003 % de la plante.

D'autre part, la solution éthéro-pétroléique évaporée laisse un résidu résineux pesant 6,30 g.

La poudre ainsi traitée par l'éther de pétrole est mise à sécher, puis elle est humectée au moyen de 70 ml d'une solution méthanolique d'acide acétique à 1,5 %.

Après un contact de 4 heures, la poudre est lixiviée par 1 litre de solution méthanolique acétique.

Le lixiviat est concentré, sur bain-marie et sous pression réduite, jusqu'à consistance d'extrait mou; le résidu est alors repris par 250 ml d'eau distillée chaude, et la solution placée au réfrigérateur.

Après un repos de 24 heures, le liquide surnageant est filtré, placé dans une ampoule à décantation, alcalinisé au moyen de 30 ml d'ammoniaque, et épuisé par trois fois 100 ml de chloroforme.

La solution chloroformique est lavée par de l'eau distillée jusqu'à neutralité, séchée sur sulfate de sodium anhydre et distillée.

Le résidu alcaloïdique pesant 140 mg représente 0,14 % du poids de plante traité.

2° EXTRACTION DES ALCALOÏDES BRUTS.

— 4 kgs de poudre de feuilles sont lixiviés par 40 litres d'éther de pétrole, suivant la méthode ci-dessus exposée.

130 mg d'alcaloïdes sont ainsi obtenus.

D'autre part, la solution éthéro-pétroléique laisse un résidu pesant 250 g.

— La poudre est ensuite épuisée par 40 litres de méthanol suivant le procédé décrit dans les essais préliminaires.

Cependant, les deux opérations supplémentaires suivantes sont effectuées :

- Avant de pratiquer l'alcalinisation par de l'ammoniaque, la solution aqueuse acétique, soit 2,5 litres, est agitée avec deux fois 250 ml d'éther, qui se colore en jaune clair.

Cet éther est évaporé, et le résidu est repris par 100 ml de solution aqueuse d'acide acétique à 1,5 %.

Après filtration, la solution limpide est alcalinisée par 5 ml d'ammoniaque, et épuisée par 150 ml d'éther utilisés en trois fois. La solution éthérée, lavée, séchée, et amenée à siccité, laisse un résidu alcaoloïdique pesant 1,600 g.

- Après ce traitement par l'éther en milieu acide, la solution aqueuse acétique (2,5 litres) est alcalinisée par 100 ml d'ammoniaque, épuisée dans une ampoule à décantation, successivement par trois fois 500 ml d'éther, puis par trois fois 250 ml de chloroforme.

Les solutions éthérées et chloroformiques sont lavées, séchées et distillées séparément.

Le résidu d'extraction par l'éther pèse 2,400 g.

Le résidu d'extraction par le chloroforme pèse 2 g.

— Les eaux-mères ammoniacales donnent, après acidification au moyen d'acide acétique (pH 5,5) une réaction fortement positive avec le réactif de VALSER-MAYER.

Des essais de précipitation des *bases quaternaires* sont alors effectués.

- Dans un tube à essais, 5 gouttes de solution saturée d'acide picrique sont ajoutées à 5 ml de solution aqueuse acétique (pH 5,5). Un précipité visqueux se colle aux parois du tube.

- Dans les mêmes conditions, 5 gouttes d'une solution de nitrate de sodium provoquent l'apparition d'un trouble très léger.

- Dans les mêmes conditions, 5 gouttes d'une solution d'acide perchlorique diluée au quart, réalisent un précipité abondant, et n'adhérant pas aux parois du tube.

La totalité de la solution acide, renfermant les bases quaternaires, est concentrée jusqu'à 800 ml, par distillation sous vide poussé.

Après refroidissement, elle est additionnée de 40 ml d'acide perchlorique dilué au tiers. Le précipité floconneux, lavé, puis séché à 37°, de couleur brun-clair, pèse 9,20 g, soit approximativement 7,20 g exprimé en *bases quaternaires*.

Résultats pour 4 kgs de plante :

	Solvant d'extraction	Poids	Rendement
<i>Bases tertiaires :</i>	Ether de pétrole*	0,130 g	0,003 %
	Ether (milieu acide)*	1,600 g	0,040 %
	Ether (milieu alcalin)*	2,400 g	0,060 %
	Chloroforme (milieu alcalin)	2,000 g	0,050 %
<i>Bases quaternaires :</i>		7,200 g	0 180 %
<i>Alcaloïdes, totaux :</i>		13,330 g	0,333 %

3° ETUDE DES BASES QUATERNAIRES.

a) Obtention du perchlorate de l'alcaloïde x :

Le précipité sec de perchlorate de *bases quaternaires*, pesant 9,20 g. et représentant 0,18 % du poids de plante (exprimé en *bases quaternaires*), est trituré sur bain-marie, avec 4 fois 50 ml d'acétone.

Après filtration sur plaque de verre fritté, de porosité 3, l'acétone est chassée par distillation.

5,20 g de résidu amorphe sont ainsi obtenus.

Ce résidu est solubilisé, sur bain-marie, dans 150 ml de méthanol. Par évaporation lente du solvant, le perchlorate de l'alcaloïde x cristallise.

2,400 g de perchlorate de l'alcaloïde x, soit 0,06 % du poids de plante, sont ainsi isolés.

b) Etude du perchlorate de l'alcaloïde x :

Après plusieurs recristallisations, le perchlorate de l'alcaloïde x se présente sous la forme de fines aiguilles neigeuses, assez solubles dans l'acétone (12 %) et peu solubles dans le méthanol (2 %).

* Après chromatographie sur couche mince montrant l'identité de leur composition, ces trois fractions sont rassemblées, soit au total : 4,130 g.

— F $301^{\circ} \pm 1^{\circ}$.

— $(\alpha) \frac{20^{\circ}}{D}$: — 118° dans l'acétone.

— *Spectre U. V.* : (éthanol) λ_{max} à 221 ($\log \varepsilon$ 4,51) et 288 ($\log \varepsilon$ 3,72) inflexions à 245 ($\log \varepsilon$ 4,02), 275 ($\log \varepsilon$ 3,85).

— *Spectre I. R.* : un pic à 3450 cm^{-1} (NH indolique) ; deux pics à 1675 cm^{-1} et 1620 cm^{-1} (groupement ester méthylique conjugué à une double liaison) : un pic à 750 cm^{-1} (benzène ortho-disubstitué).

— *Analyse* : pour $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{O}_3\text{N}_2^+ \text{ClO}_4^-$.

	C	H	O	N	C-CH ₃	N-CH ₃
Calc. %	56,59	5,79	24,00	6,00	3,21	3,21
Tr. %	56,83	5,92	24,33	5,80	3,14	2,57
	56,85	5,86		5,96		

c) Chlorure de l'alkaloïde x :

300 mg de perchlorate d'alkaloïde x sont dissous dans 20 ml de méthanol, et la solution est passée sur 15 ml d'une suspension de résine Amberlite I.R.A. 410, en phase Cl⁻, introduite dans une colonne. L'éluant est concentré à 5 ml, et additionné progressivement d'éther jusqu'à début de cristallisation du chlorure de l'alkaloïde x.

210 mg de chlorure sont ainsi obtenus.

— F $265^{\circ} \pm 2^{\circ}$.

— $(\alpha) \frac{20^{\circ}}{D}$: — 124° dans le méthanol.

— *Spectre U. V.* : mêmes pics caractéristiques que le perchlorate.

— *Spectre I. R.* : mêmes bandes caractéristiques que le perchlorate.

— *Analyse* : pour $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{O}_3\text{N}_2^+ \text{Cl}^-$.

	C	H	O
Calc. %	65,59	6,70	11,90
Tr. %	65,18	6,74	11,54

d) **Iodométhylate d'akuammigine :**

1 ml d'iodure de méthyle est ajouté à la solution de 200 mg d'*akuammigine* dans 15 ml du mélange benzène-éther 12 : 3.

Après ébullition à reflux sur bain-marie, et repos de 48 heures à la température du laboratoire et à l'obscurité, 145 mg d'iodométhylate sont obtenus, sous la forme d'un précipité amorphe jaunâtre.

Une chromatographie sur couche mince de l'iodométhylate isolé, montre qu'il est exempt de toute trace de base tertiaire.

e) **Chlorure de N_(b) - méthyl akuammigine :**

90 mg d'iodométhylate d'*akuammigine*, en solution dans 10 ml de méthanol, sont passés sur une colonne de 10 ml de suspension de résine Amberlite I.R.A. 410, en phase Cl⁻ : l'éluant est évaporé doucement ; il cristallise le chlorure de N_(b) - *méthyl akuammigine*.

60 mg de chlorure sont obtenus.

— F : $248^{\circ} \pm 4^{\circ}$.

— $[\alpha]_D^{20}$: — 37° dans le méthanol.

f) **Perchlorate de N_(b) - méthyl akuammigine :**

55 mg d'iodométhylate d'*akuammigine*, en solution dans 5 ml de méthanol, sont additionnés de 5 gouttes d'une solution aqueuse d'acide perchlorique au 1/4. Le perchlorate de N_(b) - *méthyl akuammigine* précipite. Il est recristallisé dans le minimum de méthanol avec addition progressive d'éther.

41 mg de perchlorate sont obtenus.

— F : $287^{\circ} \pm 3^{\circ}$.

— $[\alpha]_D^{20}$: — 38° dans l'acétone.

g) **Iodométhylate de tétrahydroalstonine :**

1 ml d'iodure de méthyle est ajouté à la solution de 200 mg de *tétrahydroalstonine* (F 230° : $[\alpha]_D^{20}$: — 101° dans le chloroforme ;

U. V. dans l'éthanol en milieu neutre : Max. λ_{mp} 224, $\log \epsilon$ 4.52 et λ_{mp} 289, $\log \epsilon$ 3.81) dans 15 ml de mélange : benzène-éther 12 : 3.

Après ébullition à reflux sur bain-marie, la solution est abandonnée 48 h. à la température du laboratoire et à l'obscurité.

Une chromatographie sur couche mince pratiquée sur le mélange réactionnel montre qu'une partie de la *tétrahydroalstonine* n'a pas été quaternarisée. Après évaporation, puis addition d'eau distillée, la base tertiaire est éliminée par extraction au moyen de benzène : et l'*iodure quaternaire* est isolé par évaporation de la phase aqueuse sous pression réduite.

130 mg d'iodométhylate amorphe, donnant une seule tache par chromatographie sur couche mince, sont ainsi obtenus.

h) Chlorure de $N_{(b)}$ - méthyl tétrahydroalstonine :

130 mg d'iodométhylate de *tétrahydroalstonine* sont mis en solution dans 5 ml de méthanol, et cette solution est passée sur colonne de résine échangeuse Amberlite I. R. A. 410, en phase Cl^- , la suspension de résine ayant un volume de 10 ml.

L'éluant méthanolique est concentré jusqu'à début de cristallisation.

110 mg de chlorure de $N_{(b)}$ -méthyl *tétrahydroalstonine* sont ainsi isolés.

— F : $266^\circ \pm 2^\circ$.

— $[\alpha]_D^{20}$: -120° dans l'eau et -128° dans le méthanol.

Par mélange avec le chlorure de l'*alcaloïde x*, le point de fusion ne subit aucune dépression.

— Les spectres *U. V.* et *I. R.* sont exactement superposables à ceux du chlorure de l'*alcaloïde x*.

i) Perchlorate de $N_{(b)}$ - méthyl tétrahydroalstonine :

5 gouttes d'une solution aqueuse au 1/4 d'acide perchlorique sont ajoutées à la solution de 60 mg de chlorure de $N_{(b)}$ - méthyl *tétrahydroalstonine* dans 15 ml de méthanol.

58 mg de perchlorate cristallisé sont ainsi obtenu.

Après 3 recristallisations dans le méthanol, on obtient de belles aiguilles duveteuses brillantes.

— $F : 300^{\circ} \pm 2$.

— $[\alpha]_D^{20}$: -118° dans l'acétone.

Par mélange avec le perchlorate de l'alcaloïde x , le point de fusion ne subit aucune dépression.

— Les spectres $U. V.$ et $I. R.$ sont exactement superposables à ceux du perchlorate de l'alcaloïde x .

— Les deux perchlorates mélangés et déposés en solution sur une plaque pour chromatographie sur couche mince, ne donnent qu'une seule tache.

j) Pyrolyse du chlorure de l'alcaloïde x :

Le chlorure de l'alcaloïde x est solubilisé dans le minimum de méthanol. La solution méthanolique est introduite dans un tube à boule, et évaporée sur bain-marie, en imprimant au tube un mouvement de rotation qui dépose un film d'égale épaisseur dans la boule.

Le tube est porté dans une enceinte préchauffée à 270° , sous un vide de 0.01 mm. Il se dépose dans la partie froide du tube, des cristaux jaunes.

Après plusieurs recristallisations dans le méthanol, le dérivé obtenu fond à $230^{\circ} \pm 1$.

Par mélange avec de la tétrahydroalstonine, ce point de fusion ne subit pas de dépression.

— $[\alpha]_D^{20}$: -99° dans le chloroforme.

— Spectre $U. V.$: dans l'éthanol : Max. $\lambda_{\text{m}\mu}$ 224, $\log \varepsilon$ 4,52,
289, $\log \varepsilon$ 3,81.

— Spectre $I. R.$: bandes à 3450 cm^{-1} , 1700 cm^{-1} et 1610^{-1}

Ces spectres $U. V.$ et $I. R.$ sont entièrement superposables à ceux de la tétrahydroalstonine.

4° ETUDE DES BASES TERTIAIRES.

a) Chromatographie sur couche mince :

— Un chromatogramme effectué avec les alcaloïdes extraits par le chloroforme montre une seule tache étirée, proche du point d'origine.

— Chromatographie sur l'ensemble des fractions éthérées :

Couples d'éluants : A puis B, et d'autre part, l'éluant E dans les deux sens. On note 9 taches (figure 10).

Taches n ^{os} 1, 2, 3, 4	+	en tache étirée très polaires.	
5	++	coordonnées de	<i>l'akuammine</i> .
6	+++	rougeâtre avant révélation	produit de dégradation.
7	+++		<i>Picraphylline</i> .
8	++	coordonnées de	<i>akuammigine</i> .
9	+		non attribuée.

b) **Chromatographie sur colonne des fractions étherées :**

Poids d'alcaloïdes obtenus	4,130 g
Insoluble après ébullition à reflux dans le mélange cyclohexane-benzène 50 : 50	0,430 g
Insoluble après refroidissement et repos	0,250 g
Poids chromatographié sur colonne	3,450 g
Poids d'alumine	100 g
Volume des fractions	80 ml

Eluant	N ^o des fractions	Poids brut	Solvant	Poids cristallisé	Nature l'alcaloïde
Cyclohexane + Benzène 50 %	1 à 6	0,060 g	—	—	Non alcaloïdique
	7 à 15	0,030 g	—	—	Idem.
Benzène + 5 Ether 10 %	16 à 25	0,070 g	—	—	Taches : 9, 8
Benzène + Ether 10 %	26 à 74	0,400 g	—	—	akuammigine (chlorhydrate 0,270)
Benzène + Ether 20 %	75 à 191	0,585 g	acétone	0,080 g	picraphylline
Benzène + Ether 50 %	92 à 120	0,725 g	méthanol	0,070 g	akuammine
Ether + Méthanol 2-50 % et Méthanol	121 à 150	0,480 g	—	—	Taches : 1, 2, 3, 4

— L'*akuammigine*, purifiée sous la forme de son chlorhydrate, conduit à des cristaux présentant les mêmes constantes physiques et les mêmes spectres que l'*akuammigine* de référence.

— L'*akuammine*, par son *Rf* faible, 0,11 dans l'éluant E, et son point de fusion élevé 315°, est identifiée à l'*akuammine* de référence. Leurs spectres *I. R.* et *U. V.* sont exactement superposables.

c) Etude de la picraphylline :

Poudre blanche microcristalline. Eluants A et D : *Rf* : 0,28 et 0,41.

— *F* : 255°.

— $(\alpha)_D^{20}$: — 37° en solution chloroformique.

— Spectre *U. V.* : en solution éthanolique neutre :

Max. $\lambda_{m\mu}$ 238 $\log \varepsilon$ 4,14,
313 $\log \varepsilon$ 3,98.

— Spectre *I. R.* : un pic à 3335 cm^{-1} (NH indolique).

un pic à 765 cm^{-1} (benzène orthodisubstitué).
trois pics imputables à deux groupements carbonyles : 1630 cm^{-1} , 1680 cm^{-1} et 1695 $^{-1}$.

— Spectre de *R. M. N.* : pics à δ : 9,05 p.p.m. ; 7,55 p.p.m. ; 3,72 p.p.m., 2 p.p.m. et 1,3 p.p.m.

— Spectre de masse : pic à *m/e* : 382, pour la masse la plus élevée.

z) Réduction de la picraphylline par le borohydrure : picraphyllinols.

A la solution de 14 mg de *picraphylline* dans 25 ml de méthanol, maintenue sous agitation, sont ajoutés dans un intervalle de 2 h. 30, 250 mg de KBH₄. Après cette période, le spectre *U. V.*, mesuré sur une goutte de solution diluée dans l'éthanol, présente les $\lambda_{m\mu}$ max. 227 et 285. La solution méthanolique est concentrée, additionnée de 30 ml d'eau distillée, puis d'acide chlorhydrique dilué jusqu'à pH : 1.

La solution aqueuse est alors alcalinisée par la soude et épuisée au moyen de 15, 10 et 5 ml de chloroforme. Les solutions chloroformiques rassemblées, sont lavées par de l'eau distillée, séchées sur sulfate de sodium anhydre, et distillées jusqu'à siccité.

8 mg de produit sont ainsi obtenus.

— *Spectre I. R.* (film) : pics à 1630 et 1695^{-1} (ester conjugué).

— *Spectre U. V.* : (éthanol) $\lambda_{\text{m}\mu}$ max. 227 ($\log \varepsilon$ 4,58) 285 ($\log \varepsilon$ 4,03) inflexion à 245 ($\log \varepsilon$ 4,02).

— *Chromatographie sur couche mince de silicagel* (éluant : mélange benzène-acétate d'éthyle 50 : 50) : deux taches d'intensité égale.

β) Pyrolyse des chlorhydrates : *tétrahydroalstonine* :

Une goutte d'acide chlorhydrique concentré est ajoutée à la solution dans 50 ml d'éthanol du dérivé ci-dessus décrit.

La solution est concentrée sous pression réduite, mais les essais de cristallisations échouent. Elle est transvasée dans la boule d'un tube à sublimation, et distillée jusqu'à siccité en assurant une répartition homogène sur les parois de la boule.

Le tube à sublimation est porté sous vide poussé, dans un four préalablement chauffé à 280° . Une huile légèrement colorée est recueillie, dont le constituant majeur présente, en chromatographie sur couche mince, le même *Rf* que la *tétrahydroalstonine*.

Après une chromatographie préparative sur couche mince, et une nouvelle sublimation de la fraction la moins polaire, 1,41 mg de dérivé est obtenu.

— *Chromatographie sur couche mince de silicagel* (benzène-acétate d'éthyle 50 : 50) : une tache de même *Rf* que la *tétrahydroalstonine* : une impureté minime de *Rf* inférieur : pas de tache supplémentaire par surcharge avec la *tétrahydroalstonine* de référence.

— $[\alpha]_{578}^{20^{\circ}}$: -78° (chloroforme : $c = 0,282$).

— *Spectre I. R.* (film) : pratiquement superposable à celui de la *tétrahydroalstonine*.

— *Spectre U. V.* : $\lambda_{\text{m}\mu}$ max. 225 ($\log \varepsilon$ 4,59) et 291 ($\log \varepsilon$ 3,85) inflexion : 245 ($\log \varepsilon$ 3,90).

γ) Pyrolyse du chlorure de $N_{(b)}$ -*méthylakuammigine* : *akuammigine* :

60 mg de *chlorométhylate d'akuammigine* sont répartis uniformément, par distillation de leur solution méthanolique, à l'intérieur de la boule d'un tube à sublimation.

Le tube à sublimation est porté sous vide poussé dans un four préalablement chauffé à 280°. Une laque incolore est recueillie (32 mg).

En chromatographie sur couche mince de silicagel, on observe une seule tache, de *R_f* identique à celui de l'*akuammigine* ; on n'observe pas de tache correspondant à la *tétrahydroalstonine*.

Après dissolution dans le méthanol, addition d'une goutte d'acide chlorhydrique et concentration, un chlorhydrate cristallisé est isolé. Une seconde cristallisation dans le méthanol fournit le chlorhydrate d'*akuammigine* : *F* 287° ; $[\alpha]_{\text{D}} = -38^{\circ}$ (méthanol) ; *spectre I. R.* superposable à celui d'un échantillon de référence.

BIBLIOGRAPHIE

1. AGORAMURTHY (K.) et ROBINSON (R.) : *Tetrahedron*, 1957, *1*, 172.
2. ASHER (J.M.M.), ROBERTSON (J.M.), SIM (G.A.), BARTLETT (M.F.), SKLAR (R.) et TAYLOR (W.I.) : *Proc. chem. Soc.*, 1962, p. 72.
3. AUBREVILLE (A.) : *Flore forestière de la Côte d'Ivoire*, 1936, ed. I, 3, p. 174.
4. AUBREVILLE (A.) : *Flore forestière de la Côte d'Ivoire*, 1959, ed. II, 3, p. 206.
5. BACHLI (E.), VAMVACAS (C.), SCHMID (H.) et KARRER (P.) : *Helv. Chim. Acta*, 1957, *40*, 1167.
6. BARTLETT (M.F.) et TAYLOR (W.I.) : *J. Amer. Chem. Soc.*, 1963, *85*, 1203.
7. BERNAUER (K.), SCHMID (H.) et KARRER (P.) : *Helv. Chim. Acta*, 1958, *41*, 673.
8. BERNAUER (K.), ARNOLD (W.), WEISSMANN (C.), SCHMID (H.) et KARRER (P.) : *Helv. Chim. Acta*, 1960, *43*, 717.
9. BRITTEN (A.Z.), EDWARDS (P.N.), JOULE (J.A.), SMITH (G.F.) et SPITELLER (G.) : *Chem. and Ind.*, 1963, p. 1120.
10. BRITTEN (A.Z.) et SMITH (G.F.) : *J. Chem. Soc.*, 1963, p. 3850.
11. CHEVALIER (A.) : *Expl. Bot. A.O.F.*, 1920, *1*, 428.
12. CLINQUART (E.) : *Bull. Acad. Royal. Méd. de Belgique*, 1926, *6*, 492.
13. CLINQUART (E.) : *J. Pharm. de Belgique*, 1927, *11*, 187.
14. DURAND (T.) et DURAND (H.) : *Sylloge Florae Congolanae*. Bruxelles, 1909, 338.
15. EDWARDS (P.N.) et SMITH (G.F.) : *Proc. Chem. Soc.*, 1960, p. 215.
16. EDWARDS (P.N.) et SMITH (G.F.) : *J. Chem. Soc.*, 1961, p. 152.
17. HENRY (T.A.) : *J. Chem. Soc.*, 1932, p. 2759.
18. HENRY (T.A.) et SHARP (T.M.) : *J. Chem. Soc.*, 1927, p. 1950.
19. HOLMES (E.M.) : *The Pharm. Journ.*, 1915, *95*, 75.
20. HUTCHINSON (J.) et DALZIEL (J.M.) : *Flora of West tropical Africa*, 1931/36, ed I,2, 40.
21. HUTCHINSON (J.) et DALZIEL (J.M.) : *Flora of West tropical Africa*, 1963, ed. II, 2, 62.

22. JANOT (M.-M.) et GOUTAREL (R.) : Bull. Soc. Chim., 1951, p. 588.
23. JANOT (M.-M.), GOUTAREL (R.), LE HIR (A.), TSATSAS (G.) et PRELOG (V.) : Helv. Chim. Acta., 1935, 38, 1073.
24. JANOT (M.-M.), GOUTAREL (R.) et PRELOG (V.) : Helv. Chim. Acta, 1951, 34, 1207.
25. JANOT (M.-M.), LE MEN (J.), GOSSET (J.) et LÉVY (J.) : Bull. Soc. Chim., 1962, p. 1079.
26. JANOT (M.-M.), OLIVIER (L.), LÉVY (J.) et LE MEN (J.) : Communication personnelle.
27. JOULE (J.A.) et SMITH (G.F.) : J. Chem. Soc., 1962, p. 312.
28. LEDOUBLE (G.), OLIVIER (L.), QUIRIN (M.), LÉVY (J.) et LE MEN (J.) : Ann. Pharm. Fr., 1964, 22, 463.
29. LÉVY (J.), LEDOUBLE (G.) et coll., Bull. Soc. Chim., sous presse.
30. LÉVY (J.) : Thèse Doctorat es-Sciences, Paris, 1962.
31. LÉVY (J.), LE MEN (J.) et JANOT (M.-M.) : Bull. Soc. Chim., 1960, p. 979.
32. LÉVY (J.), LE MEN (J.) et JANOT (M.-M.) : Compt. Rend. Acad. Sci., 1961, 253, 131.
33. LÉVY (J.), LE MEN (J.) et JANOT (M.-M.) : Bull. Soc. Chim., 1961, p. 1658.
34. MILLSON (M.F.), ROBINSON (R.) et THOMAS (A.F.) : Experientia, 1953, 9, 89.
35. OLIVIER (L.), LÉVY (J.), LE MEN (J.) et JANOT (M.-M.) : Ann. Pharm. Fr., 1962, 20, 361.
36. OLIVIER (L.), LÉVY (J.), LE MEN (J.), JANOT (M.-M.), DJERASSI (C.), BUDZIKIEWICZ (H.), WILSON (J.M.) et DURHAM (L.J.) : Bull. Soc. Chim., 1963, p. 646.
37. OLIVIER (L.), LÉVY (J.), LE MEN (J.), JANOT (M.-M.), BUDZIKIEWICZ (H.) et DJERASSI (C.) : Ann. Pharm. Fr., 1964, 22, p. 35.
38. PICHON (M.) : Mem. Museum, Nat. Hist. Nat., 1948, 24, p. 114.
39. PICHON (M.) : Mem. museum, Nat. Hist. Nat., 1948, 27, p. 238.
40. PICHON (M.) : Mem. Museum, Nat. Hist. Nat., 1948, 24, p. 160.
41. PICHON (M.) : Separata do Boletim da Sociedade Broteriana, 1953, 27, 75 et 89.
42. PIERRE (L.) : In Bull. mens. Soc. Lin. Paris, 1896, 2, 1277.
43. PUISIEUX (F.), GOUTAREL (R.), JANOT (M.-M.) et LE HIR (A.) : Comp. Rend. Acad. Sci., 1959, 249, 1369.
44. RAYMOND-HAMET (M.) : Comp. Rend. Acad. Sci., 1940, 211, 125.
45. RAYMOND-HAMET (M.) : Arch. F. Expt. Pathol. u. Pharmacol., 1942, 199, 399.
46. RAYMOND-HAMET (M.) : Compt. Rend. Acad. Sci., 1945, 221, 699.
47. RAYMOND-HAMET (M.) : Rev. Int. App. et Agr. Trop., 1951, 31, 465.

48. RAYMOND-HAMET (M.) : *Compt. Rend. Acad. Sci.*, 1954, *148*, 458.
 49. RENNER (U.) : *Experientia*, 1959, *15*, 185.
 50. RENNER (U.) et PRINZ (D.A.) : *Chimia*, 1961, *15*, 321.
 51. ROBINSON (R.) et THOMAS (A.F.) : *J. Chem. Soc.*, 1954, p. 3479.
 52. SCHLITTLER (E.) et HOHL (J.) : *Helv. Chim. Acta*, 1952, *35*, 29.
 53. SCHMID (H.) et KARRER (P.) : *Helv. Chim. Acta*, 1950, *33*, 512.
 54. SCOTT (C.C.), SIM (G.A.) et ROBERTSON (J.M.) : *Proc. chem. Soc.*, 1962, p. 355.
 55. SHAMMA (M.) et MOSS (J.B.) : *J. Amer. Chem. Soc.*, 1961, *83*, 5038.
 56. SHAMMA (M.) et MOSS (J.B.) : *J. Amer. Chem. Soc.*, 1962, *84*, 1739.
 57. SHAMMA (M.) et MOSS RICHEY (J.B.) : *J. Amer. Chem. Soc.*, 1963, *85*, 2507.
 58. SHARP (T.M.) : *J. Chem. Soc.*, 1934, p. 287.
 59. SMITH (G.F.) : *Chem. and Ind.*, 1961, p. 1120.
 60. STAFF (O.) : *Bull. of Miscellan. Inform. R. Gardens Kew*, 1964, p. 22.
 61. STAFF (O.) : *Bull. of Miscellan. Inform. in Thiselton-Dyer W., Flora of Trop. Afr.*, 1904, *4*, 96-103.
 62. STAFF (O.) : *In Kew Bulletin*, 1908, p. 302.
 63. TAYLOR (W.I.), BARTLETT (M.F.), OLIVIER (L.), LEVY (J.) et LE MEN (J.) : *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1964, p. 392.
 64. WENKERT (E.) et BRINGI (N.V.) : *J. Amer. Chem. Soc.*, 1959, *81*, 1474.
 65. WENKERT (E.) et BRINGI (N. V.) : *J. Amer. Chem. Soc.*, 1959, *81*, 5553.
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	17
PARTIE THEORIQUE	
I. — ETUDE BOTANIQUE	21
II. — ETUDE CHIMIQUE	31
<i>Historique</i>	31
<i>Etude des graines</i>	32
<i>Etude des racines</i>	45
<i>Etude des tiges</i>	57
<i>Etude des feuilles</i>	60
III. — NOMENCLATURE DES ALCALOIDES ISOLES DU PICRALIMA NITIDA	79
CONCLUSION	83
PARTIE EXPERIMENTALE	87
<i>Etude des graines</i>	90
<i>Etude des racines</i>	101
<i>Etude des tiges</i>	105
<i>Etude des feuilles</i>	108
BIBLIOGRAPHIE	121

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

Les alcaloïdes des Pervenches

Vu et approuvé :

Paris, le 26 Février 1964.

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,

Guillaume VALETTE.

Vu et approuvé :

Paris, le 26 Février 1964.

Le Président du Jury,

Maurice-Marie JANOT.

Vu et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

Jean ROCHE.

IMPRIMERIE DU NORD-EST

15, Rue des Telliers

REIMS

